

# Терапевтический лекарственный мониторинг при эпилепсии: альтернативные подходы

А.А. Родионов, И.А. Кабанова, Р.Д. Сейфулла, А.Б. Тимофеев

Научный центр неврологии РАМН, Москва

*Терапевтический лекарственный мониторинг является важнейшим звеном противозепилептической терапии, и поиск альтернативных неинвазивных методов такого мониторинга представляет собой актуальную задачу клинической неврологии. С этой целью проведено определение содержания антиконвульсанта карбамазепина после его однократного приема в виде таблетки в дозе 200 мг в пробах плазмы и слюны здоровых добровольцев в возрасте 18–25 лет методом хроматомасс-спектрометрии. Максимальная концентрация препарата, достигнутая в плазме, составила 2,6–2,7 мкг/мл, в слюне – 0,75 мкг/мл; отношение концентрации препарата в слюне к его уровню в плазме составило в среднем 0,3. Время достижения максимальной концентрации было одинаковым как в крови, так и в слюне – 6–7 часов. Время полувыведения карбамазепина для крови и слюны также одинаково:  $T_{1/2} = 15–16$  часов. Выявлена значимая корреляция между концентрацией карбамазепина в плазме и в слюне ( $R^2=0,893$ ). Таким образом, при лечении больных эпилепсией карбамазепином представляется возможным использовать слюну в качестве адекватной биологической пробы при проведении неинвазивного лекарственного мониторинга.*

**Ключевые слова:** эпилепсия, терапевтический лекарственный мониторинг, карбамазепин, плазма, слюна.

Эпилепсия относится к числу важнейших медицинских и социальных проблем современного общества: на ее долю приходится почти треть всех заболеваний головного мозга (еще выше встречаемость эпилептических припадков, особенно в детском возрасте), а в общей популяции доля лиц, страдающих различными формами эпилепсий, достигает 0,75–1% [4, 5, 9]. Не случайно к данной группе заболеваний на протяжении многих десятилетий приковано пристальное внимание практических врачей и исследователей – неврологов, психиатров, педиатров, фармакологов, специалистов в области экспериментальной нейронаук и др. Современный прогресс нейрофизиологии, молекулярной биологии и нейрофармакологии способствовал раскрытию ряда ключевых звеньев эпилептогенеза и молекулярных основ развития различных форм эпилепсий, а также привел к появлению значительного числа новых противозепилептических препаратов [7, 10]. В настоящее время известно уже свыше 25 хорошо изученных антиконвульсантов, принадлежащих более чем к десятку различных химических групп [1, 10], и не вызывает сомнений, что процесс создания и внедрения в практику все новых и новых противозепилептических препаратов будет весьма интенсивно развиваться в ближайшие годы.

Большинство применяемых в настоящее время в неврологии антиконвульсантов характеризуются линейной фармакокинетикой, однако для ряда препаратов (таких как фенитоин, карбамазепин и др.) чрезвычайно важным для повышения адекватности проводимой терапии является мониторингирование их уровня в крови – либо на протяжении суток, либо в определенные фиксированные моменты времени [3, 4, 19]. С учетом возможности индукции микросомальных ферментов печени и взаимодействия различных антиконвульсантов проблема терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ) особенно важна при назначении двух и более противозепилептических препаратов. То же справедливо и для некоторых категорий пациентов с

нередко непредсказуемой фармакокинетикой лекарственных соединений, например, для больных пожилого возраста, имеющих обычно целый ряд сопутствующих соматических заболеваний.

Для целого ряда препаратов назначение так называемых средних доз без учета создаваемой при этом концентрации препарата в крови может в некоторых случаях приводить либо к передозировке и осложнениям, либо к недостаточной эффективности лечения. Особенно это касается препаратов, имеющих узкий «терапевтический коридор», в частности, антиконвульсантов. Например, терапевтическая концентрация карбамазепина расположена в сравнительно узком «коридоре» от 4 до 12 мкг/мл. Концентрации ниже 4 мкг/мл считаются мало эффективными, а выше 12 мкг/мл – токсическими (табл. 1). Однако иногда положительный терапевтический эффект может быть достигнут при меньших концентрациях препарата в крови, чем нижняя граница «коридора». Бывает и так, что положительный эффект при отсутствии токсических проявлений достигается при концентрациях препарата выше верхней границы терапевтической зоны. В таких случаях врач подбирает оптимальную дозировку лекарства либо путем последовательного приближения, либо на основании результатов индивидуального ТЛМ.

Обобщая вышесказанное и мнения ряда авторов [8], можно заключить, что ТЛМ целесообразно проводить в следующих случаях:

– при значительной межиндивидуальной вариабельности фармакокинетических параметров препарата, приводящей к существенным различиям в конкретных значениях стационарных концентраций в крови пациента (особенно важно внимательно относиться к фармакотерапии у детей, у которых имеются существенные различия в массе тела и скорости метаболизма);

– при нелинейной кинетике препарата, когда нет прямой зависимости между дозой препарата и его концентрацией в крови в пределах терапевтического уровня;

– при очень узком «терапевтическом коридоре» (опасность получения нежелательных побочных и токсических проявлений);

– при специфическом контингенте пациентов (беременные и кормящие женщины, лица пожилого возраста, грудные дети и т.д.), у которых фармакокинетические параметры и, следовательно, границы безопасного «терапевтического коридора», значительно отличаются от обычных известных средних значений;

– при нарушениях функции почек, печени или желудочно-кишечного тракта, влияющих на фармакокинетические параметры;

– при политерапии, когда нельзя исключить взаимовлияния нескольких препаратов и трудно смоделировать процессы, приводящие к нормализации фармакокинетических параметров;

– при сомнениях в регулярности приема препарата пациентом.

Проведение ТЛМ, наряду с фармакокинетическими и фармакодинамическими исследованиями в I–II фазе клинических испытаний и исследованиями биоэквивалентности лекарственных препаратов, как правило, предполагает измерение полного фармакокинетического профиля (кривая концентрации препарата в крови и нередко в моче) после однократного или многократного приема исследуемого препарата [2, 3, 6, 19]. Моменты взятия проб крови выбираются для каждого изучаемого препарата с учетом того, чтобы была доступна полная информация как о процессе абсорбции, так и о распределении и выведении данного препарата; обычно продолжительность измерений составляет 3–4 периода полувыведения препарата или до достижения нижнего предела его концентрации, который зависит от чувствительности используемого метода. Измерения, число которых больше параметров фармакокинетической/фармакодинамической модели, позволяют оценить необходимые параметры структурно идентифицируемой модели любым традиционным способом – методом наименьших квадратов, методом максимального правдоподобия и т. п. [2].

Однако подобные исследования сопровождаются рядом трудностей, связанных как с собственно процессом забора крови (установка кубитального катетера требует соответствующей квалификации медицинского персонала и оборудования процедурного кабинета), так и со снижением качества жизни пациентов (испытуемых). Сама по себе установка катетера нередко приводит к возникновению гипотонии, тромбоза, контактного дерматита в месте введения, вторичного инфицирования и т. п. И если здоровые добровольцы, несмотря на указанные сложности, относительно легко переносят участие в фармакокинетических исследованиях, то больные, особенно дети, зачастую с трудом переносят все соответствующие манипуляции.

Таким образом, в неврологии и других областях клинической медицины чрезвычайно актуальной задачей является разработка альтернативных подходов к проведению в раз-

личных группах пациентов и здоровых испытуемых (добровольцев) фармакокинетических исследований, не связанных с частыми заборами венозной крови.

Многие лекарственные препараты (карбамазепин и др.) широко распределяются по органам и тканям [11] и могут быть обнаружены в различных биологических жидкостях организма, например, в спинномозговой жидкости [15] или слюне [13]. У больных, оперированных по поводу очаговой эпилепсии, была выявлена достоверная корреляция между содержанием карбамазепина в головном мозге и его содержанием в крови [15]. Было показано, что концентрация карбамазепина в слюне детей, страдающих эпилепсией, коррелирует с его концентрацией в крови [13]. В настоящее время слюна, в связи с простотой и неинвазивностью отбора проб для анализа, представляет особый интерес как объект для изучения фармакокинетики лекарственных препаратов. Весьма актуальными представляются исследования, которые подтверждали бы корреляционную зависимость между фармакокинетическими параметрами, полученными при анализе образцов крови и слюны (как и других доступных биологических жидкостей). Внедрение подобной методики позволит значительно усовершенствовать ТЛМ и поднять на качественно новый уровень проведение клинико-кинетических исследований [2].

Иллюстрацией путей решения поставленной задачи может служить полученный нами опыт сравнительного анализа фармакокинетических параметров одного из базовых противозрывных препаратов – карбамазепина – в крови и слюне добровольцев.

таблица 1: Основные фармакологические характеристики карбамазепина

Механизм действия	Уменьшение пароксизмальных разрядов нейронов (блокада натриевых каналов) и ослабление влияния возбуждающих аминокислот (глутамат)
Время достижения пика концентрации	4–8 ч (таблетки)
Период полураспада	8–20 ч
Клиренс	25–96 мл/ч/кг
Связывание с белками	75%
Биодоступность	75–85% (таблетки)
Метаболизм	Почти полностью метаболизируется посредством окисления в 10, 11-эпоксид, который обладает собственным антиконвульсантным эффектом и, вероятно, усиливает эффект карбамазепина; далее – преобразование 10,11-эпоксида в карбамазепин-10,11-дигидродиол
Способ применения	Пероральный (таблетки, таблетки пролонгированного действия, суспензия), ректальный
Кратность приема	1–4 раза в день
Начальная доза	5 мг/кг
Поддерживающая доза	15–30 мг/кг
Терапевтическая концентрация	15–45 мкмоль/л (4–12 мкг/мл)
Токсическая доза	Начальные признаки интоксикации: 63 мкмоль/л (15 мкг/мл) Серьезные признаки интоксикации: 200 мкмоль/л (50 мкг/мл)

Карбамазепин – 5Н-Дибенз[b,f]азепин-5-карбоксаид – противосудорожное средство (производное дибензазепина), оказывающее также нормотимическое, антимагниакальное, антидиуретическое (при несахарном диабете) и анальгезирующее (у больных с невралгией) действие. В таблице 1 в обобщенном виде представлены основные характеристики карбамазепина [10, 19]. Биодоступность его таблетированной формы оценивается как 75–85%, а то же соединение в виде 2%-ного сиропа при приеме внутрь обладает абсолютной биодоступностью [12]. Различные исследователи [3, 9, 19] сходятся во мнении, что примерно 70–86% карбамазепина связывается протеинами плазмы, и эта величина незначительно варьируется у разных индивидуумов. Достаточно большой объем распределения карбамазепина (1–2 л/кг) [12] свидетельствует о его проникновении в различные органы и ткани [11]. Метаболизируется препарат главным образом в печени.

В основном карбамазепин выводится в результате его биотрансформации, и только менее 1–3% введенной дозы в неизменном виде определяется в моче. В настоящее время идентифицированы 32 различных метаболита карбамазепина [14]. Основные пути биотрансформации препарата – преобразование его в карбамазепин-10,11-эпоксид (СВЗЕРХ) и последующее преобразование эпоксида в карбамазепин-10,11-дигидродиол. Основной метаболит СВЗЕРХ также обладает противосудорожными свойствами и определяется в крови, цереброспинальной жидкости и головном мозге пациентов, получающих терапию карбамазепином. У больных эпилепсией концентрация основного метаболита в крови обычно составляет 10–26% от уровня самого карбамазепина, а соотношение концентраций СВЗЕРХ/карбамазепин для цереброспинальной жидкости оценивается как 0,4–0,6 [16].

Предполагается, что проникновение карбамазепина в центральную нервную систему происходит путем пассивного транспорта [17]. Рост уровня препарата в головном мозге и цереброспинальной жидкости практически параллельно отражает динамику его концентрации в крови [15].

## Методы исследования

Обследованы клинически здоровые добровольцы (n=8) в возрасте 18–25 лет; обследование в качестве обязательной процедуры включало получение информированного согласия.

Для определения содержания карбамазепина в плазме крови и слюне использовалась методика хроматомасс-спектрометрии с предварительной экстракцией из биоматериала [18, 19]. Анализ проводили на газовом хроматомасс-спектрометре Agilent Technologies 5975 Inert XL MSD с детектором 6850 series II Network GC System, колонка DB1. В качестве газа-носителя использовали гелий (8 мл/мин).

Для определения содержания препарата в каждую пробирку с образцами сыворотки крови и слюны (объем 0,2 мл), включая нулевую и стандарт (1 мкг/мл), добавляли 50 мкл 2М NaOH. Затем к пробам добавляли по 2,5 мл диэтилового эфира и проводили экстракцию путем энергичного встряхивания образцов в течение 5 мин на аппарате Vortex. После встряхивания пробы центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 мин для отделе-

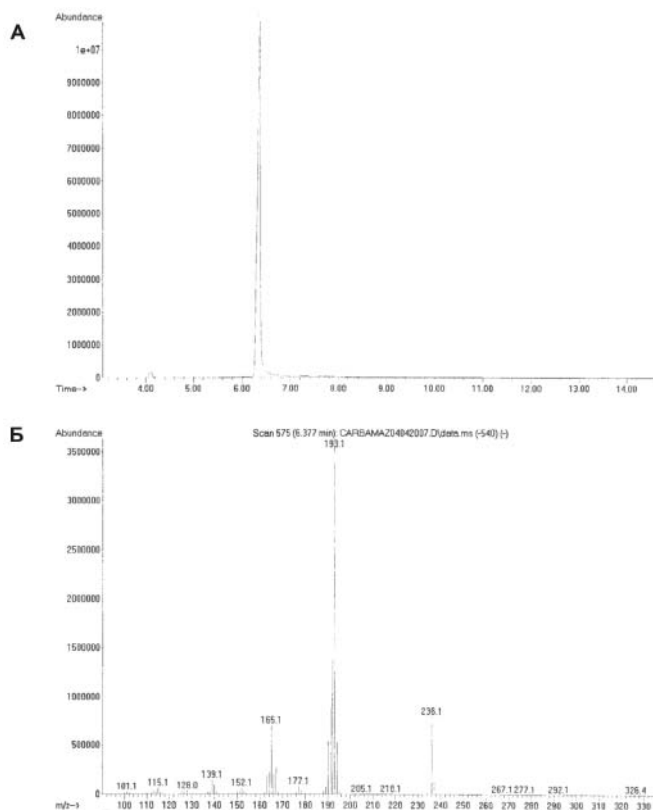


рис. 1: Образцы хроматограммы и масс-спектра исследуемой пробы А – хроматограмма пробы. По оси абсцисс – время (мин), по оси ординат – величина, характеризующая количество ионизированных частиц в исследуемой пробе. Б – масс-спектр пробы с пиками, характерными для ионизированных «осколков» карбамазепина. По оси абсцисс – отношение массы ионизированной частицы к ее заряду, по оси ординат – величина, характеризующая количество ионизированных частиц.

ния слоя диэтилового эфира. Отделившийся верхний слой отсасывали пипеткой, помещали в чистые сухие пробирки и выпаривали диэтиловый эфир в потоке воздуха при 30°C. Сухой остаток растворяли в этилацетате, инжигировали в колонку, осуществляли запись хроматограммы и определяли масс-спектры. Образцы хроматограммы и соответствующего масс-спектра представлены на рисунке 1.

Количественное определение исследуемого соединения проводили методом абсолютной калибровки. Для этого готовили стандартные растворы эталонной субстанции в концентрациях 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 и 3,0 мкг/мл. Калибровочная зависимость для карбамазепина носила линейный характер в диапазоне концентраций 0,1–3,0 мкг/мл.

## Результаты и обсуждение

Усредненные фармакокинетические профили карбамазепина в сыворотке крови и в слюне добровольцев после одноразового приема препарата внутрь в дозе 200 мг представлены на рисунке 2.

Как видно на данном графике, характер кривых, отражающих содержание препарата в обеих биологических жидкостях, практически одинаков. Установлено, что концентрация карбамазепина медленно нарастает в крови и слюне: максимальная концентрация (С<sub>max</sub>) в обеих исследуемых жидкостях достигается спустя 6–7 часов

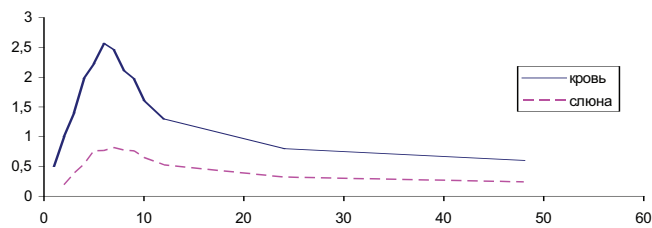


рис. 2: Динамика изменения содержания карбамазепина в сыворотке крови и слюне

По оси абсцисс – время, прошедшее после приема карбамазепина (ч), по оси ординат – концентрация карбамазепина в крови и в слюне (мкг/мл).

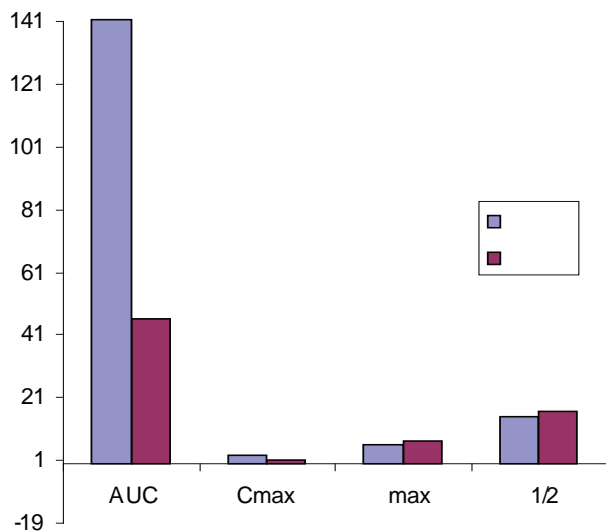


рис. 3: Фармакокинетические параметры карбамазепина, рассчитанные по изменениям его концентрации в плазме крови и слюне

AUC – площадь под кривой, Cmax – максимальная концентрация карбамазепина в крови и слюне (мкг/мл), Tmax – время достижения максимальной концентрации (ч), T1/2 – время достижения половины от максимальной концентрации (период полувыведения, ч).

(Tmax) после приема препарата. Для крови Cmax составляет 2,6–2,7 мкг/мл, для слюны – 0,75 мкг/мл (рис. 2, 3). Процесс выведения препарата из исследуемых биологических жидкостей происходит практически параллельно.

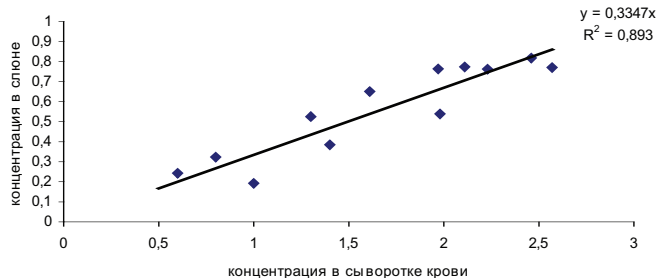


рис. 4: График регрессионной зависимости концентрации карбамазепина в слюне от его концентрации в сыворотке крови

По оси абсцисс – концентрация карбамазепина в сыворотке крови (мкг/мл), по оси ординат – концентрация карбамазепина в слюне (мкг/мл).

Скорость абсорбции карбамазепина достаточно низкая: период полувыведения T1/2 для крови и слюны составляет 15,5 и 16,2 часа, соответственно (рис. 2, 3).

В слюне концентрация карбамазепина составляет 30% от сывороточной, что соответствует свободной фракции препарата, оцениваемой приблизительно как 0,3; это согласуется с данными литературы [3].

Анализируя полученные результаты, необходимо отметить высокую степень линейной корреляции между средними значениями концентраций препарата в плазме крови и слюне во всех временных точках ( $R^2=0,893$ , график линейной регрессии представлен на рис. 4). Эти данные позволяют сделать вывод о возможности прогнозирования биодоступности карбамазепина на основании исследования концентрации препарата в слюне, что, в свою очередь, открывает новые возможности для терапевтического мониторинга.

Таким образом, можно заключить, что исследование слюны в качестве доступной биологической жидкости представляет удобную альтернативу при проведении ТЛМ антиконвульсантов у больных эпилепсией. Очевидно, что этот метод может иметь и более широкое значение в клинике применительно к другим заболеваниям и самым различным группам лекарственных препаратов.

## Список литературы

1. Авакян Г.Н. Современные аспекты лечения эпилепсии. Атмосфера. Нервные болезни. 2005; 4: 4–8.
2. Бондарева И.Б. Математическое моделирование в фармакокинетике и фармакодинамике. Дис. ... докт. биол. наук. М., 2001.
3. Гусев Е.И., Белоусов Ю.Б., Гехт А.Б. Лечение эпилепсии: рациональное дозирование антиконвульсантов. Спб.: Речь, 1999.
4. Карлов В.А. Эпилепсия. М.: Медицина, 1990.
5. Карлов В.А. Эпилепсия. В кн.: Ясно Н.Н. (ред.) Болезни нервной системы. В 2-х т. Т. 2. М.: Медицина, 2005: 208–245.
6. Мирошниченко И.И., Тюляев И.И., Зуев А.П. Биодоступность лекарственных средств. М.: Гамотей, 2003.
7. Мухин К.Ю., Петрухин А.С. Идиопатические формы эпилепсии. Систематика, диагностика, терапия. М.: Арт-Бизнес-Центр, 2000.
8. Соколов А.В. Терапевтический лекарственный мониторинг. Качеств. клин. практика 2002; 1: 6–11.
9. Эди М.Ж., Тайер Дж. Х. Противосудорожная терапия (пер. с англ.). М.: Медицина, 1983.
10. Brodie M.J., Dichter M.A. Antiepileptic drugs. New Engl. J. Med. 1996; 334: 168–175.
11. Bush D.M., Levine B.S., Smyth D.F. et al. A fatal intoxication involving carbamazepine, desipramine, and ethylene glycol. J. Anal. Toxicol. 1986; 10: 213–216.
12. Gerardin A., Dubois J.P., Moppert J. et al. Absolute bioavailability of carbamazepine after oral administration of a 2% syrup. Epilepsia 1990; 31: 334–338.
13. Goldsmith R.F., Ouvrier R.A. Salivary anticonvulsant levels in children: a comparison of methods. Ther. Drug Monit. 1981; 3: 151–157.
14. Lertratanakoon K., Horning M.G. Metabolism of carbamazepine. Drug Metab. Dispos. 1982; 10: 1–10.
15. Rambeck B., Jurgens U.H., May T.V. et al. Comparison of brain extracellular fluid and serum concentrations of antiepileptic drugs mea-

sured intraoperatively in patients with intractable epilepsy. *Epilepsia* 2006; 47: 681–694.

16. *Schoeman J.F., Elyas A.A., Brett E.M., Lascelles P.T.* Altered ratio of carbamazepine-10,11-epoxide/carbamazepine in plasma of children: evidence of anticonvulsant drug interaction. *Dev. Med. Child Neurol.* 1984; 26: 749–755.

17. *Strandjord R.E., Johannessen S.I.* Single-drug therapy with carbamazepine in patients with epilepsy: serum levels and clinical effect. *Epilepsia* 1980; 21: 655–662.

18. *Toseland P.A., Albani M., Gauchel F.D.* Organic nitrogen-selective detector used in gas chromatographic determination of some anticonvulsant and barbiturate drugs in plasma and tissues. *Clin. Chem.* 1975; 21: 98–103.

19. *Warner A., Privitera M., Bates D.* Standards of laboratory practice: antiepileptic drug monitoring. *Clin. Chem.* 1998, 44: 1088–1095.

## Therapeutic drug monitoring in epilepsy: an alternative approach

A.A. Rodyonov, I.A. Kabanova, R.D. Seifulla, A.B. Timofeev

*Research Center of Neurology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow*

**Key words:** epilepsy, therapeutic drug monitoring, carbamazepine, plasma, saliva.

Therapeutic drug monitoring is an important part of antiepileptic therapy, and the search for alternative non-invasive methods of such monitoring represents an actual task for clinical neurology. For this purpose, we determined by gas chromatography and mass spectroscopy the levels of the anticonvulsant carbamazepine in the plasma and saliva of healthy volunteers aged 18–25 years after one oral dose of 200 mg. Maximal drug concentration was 2.6–2.7 µg/ml in the plasma and 0.75 µg/ml in

the saliva; mean saliva/plasma drug level ratio was 0.3. Time necessary to reach maximal concentration was 6–7 hrs for both plasma and saliva. T<sub>1/2</sub> was also equal for both sources: 15–16 hrs. Significant correlation between the plasma and saliva carbamazepine concentrations was revealed (R<sup>2</sup>=0,893). Thus, while treating epilepsy patients with carbamazepine, it is possible to use the saliva as an adequate biological sample for conducting non-invasive drug monitoring.