



## Општи подаци и протокол истраживања

### Назив Пројекта :

УТИЦАЈ ФАРМАКОГЕНЕТИКЕ НА ЕФИКАСНОСТ И БЕЗБЕДНОСТ ТЕРАПИЈЕ  
КАРБАМАЗЕПИНОМ КОД ДЕЦЕ

### Кључне речи :

карбамазепин · фармакогенетика · деца

## Предмет, садржај и циљ истраживања

### Сажетак

Лечење карбамазепином обележено је непредвидљивом ефикасношћу и безбедношћу, јер међу пацијентима постоје значајне разлике у реакцији на његову примену. Предложена студија заснива се на претпоставци да реакција детета оболелог од епилепсије на примену карбамазепина у одређеној мери зависи и од варијација гена који регулишу метаболизам, дистрибуцију и ефекат овог лека.

Истраживање ће укључити 158 педијатријских пацијената Клинике за педијатрију Клиничког центра Крагујевац, узраста од 2 до 18 година, са дијагностикованом епилепсијом и индикованим карбамазепином као терапијом. Након потписивања формулара Информисаног пристанка, од испитаника ће бити прикупљени демографски подаци и уведен карбамазепин у терапију. На контролном прегледу месец дана касније, од испитаника ће у Служби за клиничку фармакологију Клиничког центра Крагујевац бити узет узорак крви за анализе. Генотипизација гена *CYP3A4*, *CYP3A5*, *EPHX1*, *UGT2B7*, *CYP1A2*, *CYP2C8*, *NR1I2*, *MDR1* и *SCN2A* и мерење концентрације карбамазепина у серуму биће спроведени на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу. Од испитаника ће бити узета и детаљна анамнеза о контроли епилептичких напада након увођења терапије и процењен квалитет живота на основу попуњавања адекватних упитника. Недељу дана касније, на основу резултата мерења концентрације карбамазепина у серуму извршиће се прилагођавање дозе лека. Месец дана касније обавиће се контролно мерење концентрације карбамазепина у серуму.

Циљ предложене студије биће испитивање утицаја генетских варијација на концентрацију лека у крви и ефикасност и безбедност терапије након постизања равнотежно стања код педијатријских пацијената лечених од епилепсије стандардним дозама карбамазепина, као и дефинисање популационог фармакокинетичког модела клиренса карбамазепина и утврђивање алгорита дозирања на основу утицаја фармакогенетских и демографских карактеристика пацијената.



### Циљ истраживања

Предложена студија има за циљ испитивање утицаја генетских варијација на концентрацију карбамазепина у крви, ефикасност терапије и појаву нежељених ефеката након постизања равнотежног стања код педијатријских пацијената лечених од епилепсије стандардним дозама лека, као и дефинисање популационог фармакокинетичког модела клиренса карбамазепина и утврђивање алгорита дозирања на основу утицаја фармакогенетских и демографских карактеристика пацијената. Генотипизација ће обухватити најзначајније варијације гена *CYP3A4*, *CYP3A5*, *EPHX1*, *UGT2B7*, *CYP1A2* и *CYP2C8* кодирајућих за ензиме који метаболишу карбамазепин, гена *NR1I2* кодирајућег за рецептор PXR одговоран за *CYP3A4* индукцију, гена *MDR1* кодирајућег за П-гликопротеин (транспортер) и гена *SCN2A* кодирајућег за волтажни натријумов канал Nav1.2 (рецептор за карбамазепин).

### Актуелност истраживања

Иако су претходна фармакогенетска истраживања указала на повезаност између варијација појединих гена и исхода у лечењу епилепсије карбамазепином (1), многа од њих су резултирала нејасним или међусобно сасвим супротним закључцима. На пример, студија која је укључила Кореанце оболеле од епилепсије показала је да се у одсуству ензима *CYP3A5* постижу за трећину више концентрације карбамазепина у крви (2), за разлику од студије спроведене на јапанској популацији, која је показала супротно (3). Слично томе, док неки аутори тврде да карбамазепин уопште није супстрат за П-гликопротеин (4), други су показали да полиморфизам кодирајућег *MDR1* гена корелира са појавом резистенције на терапију овим леком, при чему је резистенција пратила 3435CC генотип код британских (5), а 3435TT код јапанских пацијената (6). Такође, полиморфизам *IVS5-91G>A* гена *SCN1A* који кодира рецептор за карбамазепин доведен је везу са максималним дозама карбамазепина примењеним код пацијената британског порекла (7), док је исти полиморфизам у јапанској популацији чешћи код пацијената резистентних на овај лек, али не корелира са максималном примењеном дозом (8).

Описани опречни закључци највероватније су бар делом последица неодговарајућег дизајна студије, јер, обзиром да је реакција на сваки лек последица истовременог утицаја многих фактора који међу собом ступају у интеракције, клинички значајне резултате могу пружити само студије које истовремено истражују утицај већег броја потенцијалних кандидата за улогу у избору и дозирању карбамазепина (9, 10). Са друге стране, учесталост варијација појединих гена и/или ефикасност ензима/транспортера/рецептора значајно се разликује међу популацијама (11-13), што њихов утицај на ефикасност и безбедност лечења чини зависним од етничке припадности пацијената. Поред тога, генетске варијације могу имати различите ефекте на терапију у различитим етничким групама чак и независно од разлика у учесталости, за шта је један од примера и добро познати утицај полиморфизма *HLA-B\*1502* на развој Стивенс-Џонсоновог синдрома и токсичне епидермалне некролизе у лечењу карбамазепином, који је уочен код Азијата, али не и код осталих популација (9). Јасно је да резултати добијени испитивањем пацијената одређене етничке припадности не морају бити применљиви и на све остале, због чега је неопходно студије проширити и на друге популације (9).

Додатан проблем у ефикасном и безбедном дозирању карбамазепина чини и недостатак студија на педијатријској популацији пацијената. Познато је да је ризик од појаве нежељених



ефеката медикаментозне терапије код деце и до четири пута већи него код одраслих (14), али да су, упркос томе, клиничке студије на деци веома ретке. Иако деца, посматрано са становишта клиничких испитивања, припадају вулнерабилној популацији, добро дизајнирана студија, у којој је ризик по испитанике сведен на минимум, може у великој мери унапредити терапију. Због значајних разлика у фармакокинетици и фармакодинамици лекова које одвајају педијатријску од осталих група пацијената, раније прихватљива екстраполација података о ефикасности и безбедности лека добијених из клиничких студија на одраслима данас је замењена потребом да се деца схвате као посебна популација и лече у складу са принципима Медицине засноване на доказима.

Узевши у обзир наведено, али и чињеницу да је у Србији карбамазепин један од најчешће примењиваних антиепилептика, а педијатријска популација у томе најзаступљенија (15), верујемо да у нашој средини утицај генетике на ефекат карбамазепина код деце оболеле од епилепсије заслужује да буде додатно истражен.

### **Предмет и опис истраживања:**

#### **задачи, методологија, очекивани резултати**

Истраживање ће бити спроведено у виду проспективне интервентне клиничке студије IV фазе. У студију ће бити укључено укупно 158 педијатријских пацијената са дијагностикованом епилепсијом и индикованим карбамазепином као терапијом. Студија ће имати за задатак да анализира најзначајније варијације гена укључених у диспозицију и дејство карбамазепина, као и да испита повезаност утврђених генотипова са концентрацијом и ефектима примењеног лека.

У првој фази истраживања, на Клиници за педијатрију Клиничког центра Крагујевац потенцијалним испитаницима биће презентоване детаљне информације о студији и понуђено да потпишу формулар Информисаног пристанка. Од испитаника који добровољно пристану на учешће, а притом задовољавају све критеријуме за укључивање у студију и ниједан критеријум за неукључивање (протокол у прилогу), биће прикупљени подаци о телесној тежини, узрасту, полу и етничкој припадности. Карбамазепин ће бити уведен у терапију у препорученој дози која одговара узрасту и телесној тежини пацијента. Контролни преглед биће заказан за месец дана.

Месец дана након увођења карбамазепина у терапију, од испитаника ће у Служби за клиничку фармакологију Клиничког центра Крагујевац бити узет узорак крви за анализе. Укупно ће бити узето 8ml крви, од чега 5ml за редовно мерење концентрације лека у серуму, а 3ml за генотипизацију. Узорци ће се чувати на -20°C до извођења анализа. Мерење концентрације карбамазепина у серуму биће спроведено методом високо специфичне течне хроматографије (енгл. high performance liquid chromatography), а генотипизација најзначајнијих варијација гена *CYP3A4*, *EPHX1*, *UGT2B7*, *CYP1A2*, *CYP2C8*, *NR1I2*, *MDR1* и *SCN2A* методом ланчаног умножавања ДНК (енгл. polymerase chain reaction, PCR) и њеним модификацијама, као што су алел-специфични PCR (енгл. allele-specific PCR, AS-PCR), PCR уз примену рестрикционих ензима (енгл. polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP) или PCR у реалном времену (енгл. real-time polymerase chain reaction, RT-PCR). Све наведене анализе обавиће се на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу. Додатан узорак крви узеће се за рутинску лабораторијску анализу (Централна лабораторија Клиничког центра Крагујевац) у циљу откривања могућих нежељених ефеката карбамазепина путем процене основних лабораторијских параметара. Од испитаника односно њихових родитеља



(старатеља) биће узета и детаљна анамнеза о контроли епилептичких напада након увођења терапије. Контролни преглед биће заказан за недељу дана, када ће се, на основу резултата мерења концентрације карбамазепина у серуму, извршити се прилагођавање дозе лека. Следећи контролни преглед биће заказан за месец дана.

Месец дана након прилагођавања дозе карбамазепина, а у време непосредно пре узимања следеће дозе, од испитаника ће у Служби за клиничку фармакологију Клиничког центра Крагујевац бити узет нови узорак крви (5ml) за контролно мерење концентрације лека у серуму. Додатан узорак крви узете се за рутинску лабораторијску анализу (Централна лабораторија Клиничког центра Крагујевац) у циљу откривања могућих нежељених ефеката карбамазепина путем процене основних лабораторијских параметара. Од испитаника односно њихових родитеља (старатеља) биће поново узета и детаљна анамнеза о контроли епилептичких напада након прилагођавања дозе лека. Наредни контролни преглед биће заказан по потреби.

Од предложене студије се очекује да открије да ли и у којој мери варијације испитиваних гена утичу на ефекте терапије карбамазепином код деце у нашој популацији, као и да омогући креирање ефикасног алгоритма дозирања, који ће, поред демографских, укључити и фармакогенетске карактеристике пацијента.

### **Значај истраживања**

У терапији епилепсије, дневне дозе лека пацијенту се прилагођавају тек након започете терапије, а за то време пацијент је изложен ризику како од настанка епилептичних напада, тако и од појаве нежељених ефеката лека. Могућност да оптималну дозу карбамазепина унапред одредимо значајно би унапредила ефикасност и безбедност лечења и побољшала квалитет живота пацијента (1, 10, 15).

Овде предложена студија заснива се на претпоставци да реакција детета на примену карбамазепина зависи и од његовог фармакогенетског профила. Уколико се ова хипотеза покаже тачном, једноставна и трајна анализа као што је генотипизирање може омогућити прецизније дозирање лека и допринети побољшању ефикасности и безбедности терапије.

### **Временски оквир**

Студија ће бити започета након добијања сагласности Медицинског факултета у Крагујевцу и Агенције за лекове и медицинска средства Србије. Према статистичкој процени заснованој на резултатима претходних истраживања (16), у студију треба да буде укључено укупно 158 пацијената. Трајање студије зависиће од броја доступних пацијената који задовољавају критеријуме за укључивање.



## Литература

1. Szoeki CEI, Newton M, Wood JM, et al. Update on pharmacogenetics in epilepsy: a brief review. *Lancet Neurol* 2006;5:189–96.
2. Park PW, Seo YH, Ahn JY, et al. Effect of CYP3A5\*3 genotype on serum carbamazepine concentrations at steady-state in Korean epileptic patients. *J Clin Pharm Ther*. 2009;34(5):569-74.
3. Seo T, Nakada N, Ueda N, et al. Effect of CYP3A5\*3 on carbamazepine pharmacokinetics in Japanese patients with epilepsy. *Clin Pharm Ther*. 2006;79:509-510.
4. Owen A, Pirmohamed M, Tetley JN, et al. Carbamazepine is not a substrate for P-glycoprotein. *Br J Clin Pharmacol*. 2001;51(4):345-9.
5. Siddiqui A, Kerb R, Weale ME, et al. Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism in the drug-transporter gene ABCB1. *N Engl J Med*. 2003;348:1442-8.
6. Seo T, Ishitsu T, Ueda N, et al. ABCB1 polymorphisms influence the response to antiepileptic drugs in Japanese epilepsy patients. *Pharmacogenomics*. 2006;7(4):551-61.
7. Tate SK, Depondt C, Sisodiya SM, et al. Genetic predictors of the maximum doses patients receive during clinical use of the anti-epileptic drugs carbamazepine and phenytoin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(15):5507-12.
8. Abe T, Seo T, Ishitsu T, et al. Association between SCN1A polymorphism and carbamazepine-resistant epilepsy. *Br J Clin Pharmacol*. 2008;66(2):304-7.
9. Löscher W, Klotz U, Zimprich F, et al. The clinical impact of pharmacogenetics on the treatment of epilepsy. *Epilepsia*. 2009;50(1):1-23.
10. Makmor-Bakry M, Sills GJ, Hitiris N, et al. Genetic variants in microsomal epoxide hydrolase influence carbamazepine dosing. *Clin Neuropharmacol*. 2009;32(4):205-12.
11. Djordjevic N. Pharmacogenetics of drug metabolizing enzymes CYP1A2 and CYP2A6 in Serbian population [dissertation]. Kragujevac: University of Kragujevac; 2008.
12. Djordjevic N, Carrillo JA, Ueda N, et al. N-acetyltransferase-2 (NAT2) gene polymorphisms and enzyme activity in Serbs: unprecedented high prevalence of rapid acetylators in a white population. *J Clin Pharmacol*. 2010;doi:10.1177/0091270010377630.
13. Djordjevic N, Ghotbi R, Bertilsson L, et al. Induction of CYP1A2 by heavy coffee consumption in Serbs and Swedes. *Eur J Clin Pharmacol* 2008;64:381-385.
14. Yokoi T. Essentials for starting a pediatric clinical study (1): Pharmacokinetics in children. *J. Toxicol. Sci*. 2009;34(II):SP307-SP312.
15. Jankovic SM, Jovanovic D, Milovanovic JR. Pharmacokinetic modeling of carbamazepine based on clinical data from Serbian epileptic patients. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2008;30(9):707-13.
16. Djordjevic N, Ghotbi R, Jankovic S, et al. Induction of CYP1A2 by heavy coffee consumption is associated with the CYP1A2 -163C>A polymorphism. *Eur J Clin Pharmacol*. 2010;DOI: 10.1007/s00228-010-0823-4.