

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 15/06/2020.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**



Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Câmpus de Araraquara
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

**Impacto dos polimorfismos genéticos de OCT2 e
OCTN1 na disposição cinética da gabapentina em
pacientes com dor crônica**

Priscila Akemi Yamamoto

Orientadora: Profa. Dra. Natália Valadares De Moraes

Araraquara - SP

2018

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Câmpus De Araraquara
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

**Impacto dos polimorfismos genéticos de OCT2 e
OCTN1 na disposição cinética da gabapentina em
pacientes com dor crônica**

Priscila Akemi Yamamoto

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Natália Valadares de Moraes

Araraquara - SP

2018

Ficha Catalográfica

Elaborada por Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

Y22i

Yamamoto, Priscila Akemi

Impacto dos polimorfismos genéticos de OCT2 e OCTN1 na disposição cinética da gabapentina em pacientes com dor crônica / Priscila Akemi Yamamoto. – Araraquara, 2018.
134 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e Desenvolvimento em Fármacos e Medicamentos.

Orientadora: Natália Valadares de Moraes.

1. Gabapentina. 2. Farmacogenética. 3. Transportadores de fármacos. 4. Polimorfismo de nucleotídeo único. 5. *SLC22A2*. 6. *SLC22A4*. I. Moraes, Natália Valadares de, orient. II. Título.

CAPES: 40300005

PRISCILA AKEMI YAMAMOTO

**IMPACTO DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE OCT2 E OCTN1 NA DISPOSIÇÃO CINÉTICA
DA GABAPENTINA EM PACIENTES COM DOR CRÔNICA**

Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista – UNESP,
Campus de Araraquara como requisito para obtenção do título
de Mestra em Ciências Farmacêuticas

Araraquara, 15 de junho de 2018.

BANCA EXAMINADORA

NATÁLIA VALADARES DE MORAES

Orientadora

ROSÂNGELA GONÇALVES PECCININI

Titular

FABÍOLA DACH

(participante por vídeo-conferência)

Titular

DEDICATÓRIA

*Dedico esta, bem como todas as minhas conquistas, aos meus pais **Maria** e **José**, por sempre acreditarem em mim e me apoiarem incondicionalmente. Por serem a minha base, a minha fonte de energia e motivação para continuar lutando pelos meus sonhos.*

*Ao tio **Mitsu**, o "**Gordo**", que mais do que meu tio e padrinho é meu companheiro de aventuras, que sempre me incentivou e apoiou todas as minhas decisões.*

*À "**Bá**", minha avó **Sutae** (in memoriam), que nos momentos mais difíceis me recebia com um sorriso e me dizia para seguir em frente. E hoje está comigo nos meus pensamentos e no meu coração.*

*E ao meu anjo da guarda, meu irmão **Ricardo** (in memoriam), não importa onde eu estiver você sempre estará comigo me protegendo e me guiando para o melhor caminho.*

AGRADECIMENTOS

À minha **O**rientadora, Prof. Dr. Natália Valadares de Moraes, pela confiança depositada em mim para desenvolver esse projeto. Por toda sua dedicação, paciência, compreensão e, por fomentar meu interesse pela pesquisa incentivando meu crescimento profissional e pessoal.

Aos centros coparticipantes, Hospital Estadual Américo **B**rasiliense, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP e a Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Araraquara, por permitirem a realização do projeto disponibilizando a infraestrutura necessária para o seu desenvolvimento.

Aos profissionais do Centro de **R**eferência Diagnóstica “Professor Doutor Antônio Longo” pela atenção e paciência ao me ensinarem os procedimentos de coleta de amostras durante o meu estágio no Programa de Aperfeiçoamento da Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Araraquara da UNESP.

Aos coordenadores clínicos, Prof. Dr. Fabíola Dach, Dr. Edgar **J**anhez Júnior e Enf. Marilice Timossi, por aceitarem fazer parte desse desafio! Por auxiliarem na seleção dos pacientes, por todo tempo dedicado para retirar as dúvidas clínicas e burocráticas que surgiram, e pela preocupação com o bom andamento do projeto.

Aos meus companheiros de **G**ruppo de pesquisa, Mariana e Jhohann, por terem dividido comigo todas as preocupações, alegrias e angústias durante o desenvolvimento e validação dos métodos, pela companhia diária e durante as disciplinas e pelas extensas e produtivas discussões de resultados.

À equipe de farmácia e enfermagem do Hospital Estadual **A**mérico Brasiliense, pela contribuição no rastreamento dos pacientes e auxílio durante as coletas de amostras.

Ao Ambulatório de **D**or Neuropática/Cefaleia e Enfermaria de Neurologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP (médicos, residentes e equipe de enfermagem) pela compreensão da importância e dificuldade

de realizar um projeto clínico, pela cooperação durante as coletas de amostras e pela troca de experiências e conhecimento durante o desenvolvimento da etapa clínica deste projeto.

Ao Prof. Dr. Cleslei Fernando Zanelli por ter aceito a colaboração possibilitando a realização da genotipagem dos participantes.

À Prof. Dr. Francine Johansson *A*zeredo da Universidade Federal da Bahia (UFBA), por ter aceito participar da etapa final do projeto me ensinando a realizar a modelagem farmacocinética populacional, por toda a atenção e tempo disponibilizados durante a colaboração.

Aos técnicos do Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP pelo auxílio diário e organização do laboratório proporcionando um ambiente de trabalho seguro e dinâmico.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de mestrado, ao PADC (Programa de Apoio ao Desenvolvimento Científico da Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Araraquara da UNESP) pelo apoio financeiro que possibilitou o desenvolvimento deste projeto e a PROPG (Pró-Reitoria de Pós-Graduação) da UNESP pelo apoio financeiro com o qual foi possível realizar a modelagem populacional.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (docentes, servidores técnico-administrativos) pela dedicação e oportunidade de fazer parte de um curso de mestrado de excelência constatada em nível internacional. À Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP pela infraestrutura e suporte acadêmico, técnico, financeiro e material oferecidos durante toda a minha formação acadêmica!

Magia de la vida

A lo lejos está lloviendo
las nubes se han oscurecido
pero el sol no se ha cansado de brillar.

En medio de la tormenta hay un arcoíris
gritando al mundo que aun en la tempestad
existen los sueños, sólo para recordarnos que la luz
siempre está ahí, sólo falta abrir los ojos del alma
para que no la cubran nuestros miedos.

Los rayos del sol alumbran la oscuridad
de las nubes con lluvia y al mismo tiempo se ilumina
mi vida y despierta la magia que hay dentro de mi...

La sabiduría de la naturaleza
no nos ha rebelado sus secretos...

El mejor maestro es el que
nos deja descubrir las cosas por nosotros mismos.

Al ver tanta vida me siento chiquita, y mis problemas
a veces me dan risa, al ver que lo que de verdad
vale la pena nadie nos lo quita:
la **luz**, el **amor verdadero** y
nuestros sueños...



(Dulce María Espinoza Gaviñón)

RESUMO

A gabapentina (GAB) é um anticonvulsivante indicado para o tratamento de epilepsia e dor crônica. Possui cinética não linear relacionada a saturação do processo de absorção, não é metabolizada e é eliminada principalmente por excreção renal. Estudos sugerem a atividade dos transportadores de cátions orgânicos (OCT2 e OCTN1) na secreção renal da GAB. O objetivo do estudo foi investigar a influência dos polimorfismos genéticos de OCT2 e OCTN1 e outras possíveis covariáveis na disposição cinética da GAB em pacientes tratados com doses múltiplas. Os métodos de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por ultravioleta (CLAE-UV) para determinação da concentração de GAB no plasma e na urina foram desenvolvidos e validados segundo a RDC nº 27/2012 da ANVISA. Foi utilizado como agente derivatizante o 1-flúor-2,4-dinitrobenzeno, e como padrão interno o anlodipino. Os métodos apresentaram linearidade na faixa de 200-14.000 ng/mL de plasma e 2-120 µg/mL de urina. Foram investigados 66 participantes (35 mulheres e 31 homens), com idade média de 54 anos e com dor crônica tratados com GAB por pelo menos 7 dias. Os participantes foram genotipados como GG (n=58) e GT (n=8) para o polimorfismo *SLC22A2* c.808G>T e CC (n=31), CT (n= 27) e TT (n=8) para o polimorfismo *SLC22A4* c.1507C>T. As concentrações plasmáticas mínima de GAB no estado de equilíbrio variaram de 402,0 a 11.937,9 ng/mL durante tratamento com doses diárias que variaram de 600 a 3.600 mg. A idade e a taxa de filtração glomerular estimada apresentaram correlação significativa com a razão concentração plasmática mínima de GAB/dose diária. Outras variáveis (sexo, peso corporal e índice de massa corporal) não apresentaram correlação. A taxa de filtração glomerular estimada e a dose diária foram as covariáveis relevantes para prever a concentração plasmática mínima de GAB no estado de equilíbrio, explicando 68% da variabilidade na concentração plasmática. A análise populacional indicou que apenas a taxa de filtração glomerular possui efeito sob o clearance de GAB. Os polimorfismos *SLC22A2* c.808G>T e *SLC22A4* c.1507C>T não apresentaram influência na razão concentração plasmática mínima da GAB/dose diária e nos parâmetros farmacocinéticos populacionais estimados (constante de absorção, volume de distribuição e clearance). Em conclusão, a farmacocinética clínica da GAB é fortemente influenciada pela função renal e pela saturação dos processos de absorção e não pela farmacogenética de OCT2 e OCTN1.

Palavras-chave: gabapentina; farmacogenética; transportadores de fármacos; polimorfismo de nucleotídeo único; *SLC22A2*; *SLC22A4*.

ABSTRACT

Gabapentin (GAB) is an anticonvulsant indicated for the treatment of epilepsy and chronic pain. It has nonlinear kinetics due to the saturation of absorption process, is not metabolized and is mainly eliminated by renal excretion. Studies suggest the activity of organic cation transporters (OCT2 and OCTN1) in the renal excretion of GAB. The aim of this study is to investigate the influence of genetic polymorphisms of OCT2 and OCTN1 and other possible covariates on the kinetic disposition of GAB in patients treated with multiple doses. High performance liquid chromatography with ultraviolet detection (HPLC-UV) methods for the determination of GAB plasma and urine concentration were developed and validated according to RDC nº 27/2012 of ANVISA. 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene was used as derivatization agent, and amlodipine as internal standard. The methods showed linearity in the range of 200-14,000 ng/mL of plasma and 2-120 µg/mL of urine. Sixty-six participants (35 women and 31 men), with mean age of 54 years and with chronic pain treated with GAB for at least 7 days were investigated. They were genotyped as GG (n=58) and GT (n=8) for *SLC22A2* c.808G>T polymorphism and as CC (n=31), CT (n=27) and TT (n=8) for *SLC22A4* c.1507C>T polymorphism. GAB steady-state minimum plasma concentrations ranged from 402.0 to 11,937.9 ng/mL during the treatment with daily doses ranging from 600 to 3,600 mg. Age and estimated glomerular filtrate rate showed significant correlation with the plasma concentration of GAB/daily dose ratio. Other variables (gender, body weight and body mass index) were not correlated. The estimated glomerular filtration rate and daily dose were found as significant covariates to predict GAB minimum plasma concentration at steady-state, explained 68% of plasma concentration variability. The population pharmacokinetics showed that GAB clearance was affected only by the glomerular filtration ratio. *SLC22A2* c.808G>T and *SLC22A4* c.1507C>T polymorphisms did not influence the GAB minimum plasma concentration/daily dose ratio and the estimated population pharmacokinetic parameters (first-order absorption rate constant, volume of distribution and clearance). In conclusion, gabapentin clinical pharmacokinetics is strongly influenced by renal function and the absorption process saturation and not by the pharmacogenetics of OCT2 and OCTN1.

Key-words: gabapentin; pharmacogenetics; drug carriers; single nucleotide polymorphism; *SLC22A2*; *SLC22A4*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da gabapentina (GAB) (A) e do ácido γ -aminobutírico (GABA) (B).....	3
Figura 2. Transportadores envolvidos na disposição cinética da GAB.....	6
Figura 3. Localização dos polimorfismos de base única (SNP) com frequência maior ou igual a 1% na estrutura secundária predita da proteína OCT2.	13
Figura 4. Localização dos polimorfismos de base única (SNP) na estrutura secundária predita da proteína OCTN1.....	17
Figura 5. Protocolo de preparo de amostra de plasma para análise de GAB por CLAE-UV.	25
Figura 6. Protocolo de preparo de amostra de urina para análise de GAB por CLAE-UV.....	26
Figura 7. Amostras de urina doadas por voluntários sadios.....	29
Figura 8. Estudo do tamanho amostral (grupo experimental) em relação ao poder do teste.	35
Figura 9. Fluxograma da seleção dos participantes e do protocolo clínico do estudo. .	37
Figura 10. Cromatogramas referentes à análise da gabapentina e do padrão interno (anlodipino) em plasma e urina humana por CLAE-UV.	45
Figura 11. Cromatogramas obtidos para o efeito residual em plasma (superior) e urina (inferior).....	46
Figura 12. Análise da linearidade.....	47
Figura 13. Gráficos da %erro vs. concentração de gabapentina, em plasma e urina, comparando a regressão linear ordinária com a regressão linear após utilizar ponderação.	50
Figura 14. Fluxograma do recrutamento dos participantes do estudo.....	53
Figura 15. Concentração plasmática mínima de gabapentina no estado de equilíbrio (n=64).....	56
Figura 16. Relação entre a porcentagem da dose excretada inalterada na urina durante o intervalo de dose no estado de equilíbrio (A_e %) e a dose diária (mg/dia)	57
Figura 17. Comparação da razão da concentração plasmática mínima de gabapentina no estado de equilíbrio pela dose diária ($C_{p_{\min}}/DD$) entre homens e mulheres (n=64)..	58

Figura 18. Correlação entre as variáveis (eTFG, idade, peso corporal, IMC) e a razão da concentração plasmática mínima de gabapentina no estado de equilíbrio pela dose diária ($C_{p_{\min}}/DD$).	59
Figura 19. Análise representativa da qualidade do gDNA extraído por eletroforese em gel de agarose 0,5%, a 70 V por 1 hora e 30 minutos (n=18).....	60
Figura 20. Efeito do genótipo de OCT2 e OCTN1 na razão entre a concentração plasmática mínima de GAB e a dose diária ($C_{p_{\min}}/DD$).	61
Figura 21. Predição da concentração plasmática mínima de gabapentina no estado de equilíbrio ($C_{p_{\min}}$).....	63
Figura 22. Gráfico de concentração plasmática pelo tempo dos dados observados (n=53).....	64
Figura 23. Gráficos de correlação entre o efeito aleatório dos parâmetros farmacocinéticos (η) e as covariáveis investigadas.....	66
Figura 24. Correlação entre concentração plasmática observada e concentração plasmática populacional (A) e individual predita (B).....	68
Figura 25. Distribuição dos resíduos.	69
Figura 26. Distribuição dos efeitos aleatórios (η).....	70
Figura 27. Gráfico de verificação dos valores preditos (VPC, <i>visual predictive check</i>). ..	70
Figura 28. Reação de derivatização da GAB com 1-flúor-2,4-dinitrobenzeno (FDNB)..	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Substratos e inibidores dos transportadores OCT2 e OCTN1	13
Tabela 2. Polimorfismos do gene <i>SLC22A2</i> e a frequência dos alelos raros em diferentes grupos étnicos.....	14
Tabela 3. Polimorfismos do gene <i>SLC22A4</i> e a frequência dos alelos raros em diferentes grupos étnicos.....	17
Tabela 4. Concentrações dos controles de qualidade em plasma e urina.....	28
Tabela 5. Reagentes e condições da reação de RT-PCR utilizados para genotipagem.	40
Tabela 6. Teste-F realizado para avaliar a homocedasticidade dos dados (n=3)....	48
Tabela 7. Parâmetros da regressão linear ($y = ax + b$) obtidos utilizando diferentes pesos (w_i) e suas respectivas somatórias dos erros relativos ($\sum\%erro$)	49
Tabela 8. Precisão e exatidão (intracorrida e intercorrida) da gabapentina em plasma e urina humana por CLAE-UV.....	51
Tabela 9. Estabilidade da gabapentina em matrizes biológicas (plasma e urina) e em solução (n=3)	52
Tabela 10. Características demográficas e antropométricas dos participantes (n=66) .	54
Tabela 11. Dados clínicos dos participantes (n=66)	54
Tabela 12. Medicamentos de uso crônico mais prescritos para os participantes (n=66) .	55
Tabela 13. Quantidade de gabapentina excretada inalterada na urina	57
Tabela 14. Frequências alélicas e genotípicas para os polimorfismos <i>SLC22A2</i> c.808G>T e <i>SLC22A4</i> c.1507C>T.	61
Tabela 15. Regressão linear múltipla para estimar a contribuição das variáveis na predição da concentração plasmática mínima de gabapentina no estado de equilíbrio, $C_{p_{mín}}$ (n=53).....	62
Tabela 16. Verossimilhança e critérios de informação de Akaike.....	64
Tabela 17. Correlação de Pearson e/ou ANOVA entre os efeitos aleatórios (η) e as covariáveis.....	65
Tabela 18. Verossimilhança e critérios de informação de Akaike após adição de uma covariável.....	67
Tabela 19. Equações do modelo populacional e parâmetros estimados.....	67
Tabela 20. Parâmetros farmacocinéticos da gabapentina obtidos de estudos clínicos após administração em dose múltipla	102

Tabela 21. Métodos bioanalíticos para quantificação de gabapentina descritos na literatura de 2007-2017	104
Tabela 22. Características demográficas e antropométricas dos participantes (n=66)	107
Tabela 23. Dados clínicos dos participantes (n=66)	109
Tabela 24. Outros medicamentos utilizados pelos participantes (n=66).....	112

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- 5q31.1 – Braço longo do cromossomo 5, na região 3, banda 1, sub-banda 1
- 6q25.3 – Braço longo do cromossomo 6, na região 2, banda 5, sub-banda 3
- AA – Africano-americano
- ABCB1* - *ATP-binding cassette sub-family B member 1*
- AIC – *Akaike Information Criterion* (critérios de informação de Akaike)
- ANOVA – Análise de variância
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- AS – Asiático-americano
- AVP – Ácido valpróico
- $b^{0,+}$ – Sistema $b^{0,+}$ de transporte de aminoácidos
- BCRP – Proteína de resistência a câncer de mama
- BeWo – Células trofoblásticas humanas
- BHE – Barreira hematoencefálica
- BID – *Twice a day* (duas vezes ao dia)
- BR – Brasileiros – região sudeste
- CA – Caucasianos
- Caco-2 – Células de adenocarcinoma de cólon humano
- cDNA – DNA complementar
- CEP – Comitê de Ética em Pesquisa
- CG – Cromatografia gasosa
- CHO – *Chinese Hamster Ovary* (células derivadas do ovário do hamster chinês)
- CKD-EPI – *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*
- CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência
- CLAE-UV – Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por ultravioleta
- CMT – Neuropatia hereditária de Charcot-Marie-Tooth
- CMV – Citomegalovírus
- $C_{p_{min}}/DD$ – Razão entre concentração plasmática mínima no estado de equilíbrio pela dose diária
- CQ – Controle de qualidade
- CQA – Controle de qualidade de alta concentração
- CQB – Controle de qualidade de baixa concentração
- CQD – Controle de qualidade de diluição

CQM – Controle de qualidade de média concentração
C_{ss}C – Cistina
CV – Coeficiente de variação
DD – Dose diária
DNA – *Deoxyribonucleic acid* (ácido desoxirribonucleico)
dNTPs – Desoxirribonucleotídeos trifosfatados
DP – Desvio padrão
DPR – Desvio padrão relativo
EA – Europeu-americano
EC – Eletroforese capilar
EDTA – *Ethylenediamine tetraacetic acid* (ácido etilendiamino tetra-acético)
EFNS – *European Federation of Neurological Sciences*
EFS – Extração em fase sólida
EI/MS – *Electron ionization-mass spectrometry*
ELL – Extração líquido-líquido
EMA – *European Medicines Agency*
ENT – Transportador de nucleosídeo equilibrativo
EPR – Erro padrão relativo
eTFG – Taxa de filtração glomerular estimada
ETL – Etilista
FCF-UNESP – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP
fd – Fator de diluição
FDA – *Food and Drug Administration*
FDNB – 1-flúor-2,4-dinitrobenzeno
F_{exp} – Valor de F experimental
F_{tab} – Valor de F tabelado
GAB – Gabapentina
GABA – Ácido γ -aminobutírico
GABA_A – Receptor de GABA classe A
GABA_B – Receptor de GABA classe B
gDNA – DNA genômico
Gli-Glu – Dipeptídeo glicina-glutamato
GLUT – Transportador de glicose

HC-FMRP-USP – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

HEAB – Hospital Estadual Américo Brasiliense

HILIC – *Hydrophilic interaction liquid chromatography* (Cromatografia líquida de interação hidrofílica)

HIV – *Human Immunodeficiency Virus* (vírus da imunodeficiência humana)

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IMC – Índice de Massa Corporal

IWRES – *Individual weighted residuals* (resíduos individuais ponderados)

JEG-3 – Células placentárias humanas

LAT – Transportador de aminoácidos do tipo L

LAT1 – Transportador de aminoácidos do tipo L 1

LAT2 – Transportador de aminoácidos do tipo L 2

LEV – Levetiracetam

LIF – *Laser-induced fluorescence* (fluorescência induzida por laser)

LIQ – Limite inferior de quantificação

LSQ – Limite superior de quantificação

MATE – Transportador de extrusão de múltiplos fármacos e toxinas

MCT – Transportador de ácido monocarboxílico

ME – Mexicano-americano

ME – Microextração

MPP⁺ – [³H]-1-metil-4-fenilpiridina

MRP – Proteínas associadas à resistência a múltiplos fármacos

MS/MS – Espectrometria de massas em tandem

MS/SAS – Ministério da Saúde/Secretaria de Atenção à Saúde

MT – Monitorização terapêutica

NMDA – N-metil D-aspartato

NPDE – *Normalized prediction distribution errors* (distribuição dos erros preditos normalizada)

OAT – Transportador de ânions orgânicos

OATP – Polipeptídeo transportador de ânions orgânicos

OCT – Transportador de cátions orgânicos

OCT2 – Transportador de cátions orgânicos 2

OCTN1 – Transportador de cátions orgânicos/ergotioneína

OCTN2 – Transportador de cátions orgânicos/carnitina
P-gp – Glicoproteína-P
PEPT1 – Transportador de peptídeos 1
PGB – Pregabalina
PI – Padrão interno
PIDC – Polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica
PP – Precipitação de proteína
PWRES – *Population weighted residuals* (resíduos populacionais ponderados)
QD – *Once daily* (uma vez ao dia)
QID – *Four times a day* (quatro vezes ao dia)
RDC – Resolução da Diretoria Colegiada
RNA – *Ribonucleic acid* (ácido ribonucleico)
RP – *Reverse phase* (fase reversa)
rs – Número de referência do *SNP*
RT-PCR – Reação de polimerase em cadeia em tempo real
SBED – Sociedade Brasileira para Estudo da Dor
SCA – Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Araraquara
SDCR – Síndrome de dor complexa regional
SDS – Dodecil sulfato de sódio
SLC22A2 – *Solute carrier family 22 member 2*
SLC22A4 – *Solute carrier family 22 member 4*
SLC7A5 – *Solute carrier family 7 member 5*
SNP – *Single Nucleotide Polymorphism* (polimorfismo de base única)
SVS/MS – Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde
TARV – Terapia antirretroviral
TBG – Tabagista
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TE – Tampão Tris-EDTA
TEA – Tetraetilamônio
TID – *Three times a day* (três vezes ao dia)
TOP – Topiramato
UFBA – Universidade Federal da Bahia
UHPLC – *Ultra performance liquid chromatography* (Cromatografia líquida de ultra pressão)

URAT – Transportador de urato

UV-VIS – Ultravioleta-visível

VBG – Vigabatrina

VII – Variabilidade interindividual

VPC – *Visual predictive check* (verificação visual dos dados preditos)

LISTA DE SÍMBOLOS

$-2LL$ – $-2 \times \log\text{-likelihood}$ (verossimilhança)

η – Efeito aleatório dos parâmetros farmacocinéticos

τ – Intervalo de doses

χ^2 – Qui-quadrado

$2pq$ – Frequência do genótipo heterozigoto

aa^0 – Aminoácidos neutros

A_e – Quantidade do fármaco eliminado inalterado na urina

$ASC^{0-\infty}$ – Área sob a curva concentração plasmática vs. tempo de zero a infinito

ASC^{0-24} – Área sob a curva concentração plasmática vs. tempo de zero a 24 horas

ASC^{0-8} – Área sob a curva concentração plasmática vs. tempo de zero a 8 horas

B – Coeficiente de regressão

Cl – Clearance

Cl_{CR} – Clearance de creatinina

Cl_R – Clearance renal

$C_{m\acute{a}x}$ – Concentração plasmática máxima

$C_{p\acute{m}in}$ – Concentração plasmática mínima no estado de equilíbrio

Cr_S – Valor de creatinina sérica

C_u – Concentração de gabapentina na urina

k_a – Constante de absorção

k_b – Kilobase

k_e – Constante de eliminação

p – Frequência do alelo selvagem

p^2 – Frequência do genótipo homozigoto para o alelo selvagem

q – Frequência do alelo raro

q^2 – Frequência do genótipo homozigoto para o alelo raro

r – Coeficiente de correlação de Spearman

R^2 – Coeficiente de determinação

S^2 – Variância

$t_{1/2}$ – Meia-vida

$t_{m\acute{a}x}$ – Tempo para atingir a concentração plasmática máxima

V ou V_d – Volume de distribuição

w_i – Fator peso

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	2
2.1 Gabapentina (GAB)	2
2.1.1 <i>Mecanismo de ação</i>	3
2.1.2 <i>Farmacocinética</i>	4
2.1.3 <i>Parâmetros farmacocinéticos após administração em dose múltipla</i>	9
2.1.4 <i>Influência de variáveis na disposição cinética da GAB</i>	9
2.1.4.1 <i>Alimentação</i>	9
2.1.4.2 <i>Sexo e Idade</i>	10
2.1.4.3 <i>Regime posológico (intervalo de doses, τ)</i>	11
2.2 Transportador de cátions orgânicos 2 (OCT2)	12
2.3 Transportador de cátions orgânicos/ergotioneína 1 (OCTN1)	15
2.4 Métodos bioanalíticos para quantificação de GAB	19
3 OBJETIVOS	21
3.1 Objetivos específicos	21
3.1.1 <i>Desenvolver e validar métodos bioanalíticos para quantificação de GAB em plasma e urina humana</i>	21
3.1.2 <i>Investigar a influência dos polimorfismos SLC22A2 c.808G>T e SLC22A4 c.1507C>T na disposição cinética da GAB;</i>	21
3.1.3 <i>Investigar a influência de variáveis demográficas (idade, sexo), dados antropométricos (peso corporal) e variáveis clínicas (clearance de creatinina, índice de massa corporal) na disposição cinética da GAB;</i>	21
3.1.4 <i>Estimar os parâmetros farmacocinéticos da GAB por análise populacional.</i> ..	21
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 Métodos bioanalíticos para análise de GAB em plasma e urina	22
4.1.1 <i>Reagentes</i>	22
4.1.2 <i>Soluções-padrão</i>	22
4.1.3 <i>Equipamento e condições cromatográficas</i>	23
4.1.4 <i>Preparo das amostras</i>	24
4.1.4.1 <i>Plasma</i>	24
4.1.4.2 <i>Urina</i>	25
4.1.5 <i>Validação de métodos bioanalíticos</i>	27

4.1.5.1	<i>Preparo dos controles de qualidade (CQ)</i>	27
4.1.5.2	<i>Seletividade</i>	28
4.1.5.2.1	<i>Plasma</i>	28
4.1.5.2.2	<i>Urina</i>	28
4.1.5.3	<i>Curva de calibração/Linearidade</i>	29
4.1.5.4	<i>Efeito residual</i>	30
4.1.5.5	<i>Precisão e Exatidão</i>	30
4.1.5.6	<i>Estabilidade</i>	31
4.1.5.6.1	<i>Estabilidade de curta duração</i>	31
4.1.5.6.2	<i>Estabilidade de pós-processamento</i>	31
4.1.5.6.3	<i>Estabilidade após ciclos de congelamento e descongelamento</i>	32
4.1.5.6.4	<i>Estabilidade de longa duração</i>	32
4.1.5.6.5	<i>Estabilidade da GAB e do PI em solução</i>	32
4.2	Protocolo clínico	33
4.2.1	<i>Participantes, locais de recrutamento e coordenadores clínicos</i>	33
4.2.2	<i>Critérios de inclusão</i>	33
4.2.3	<i>Critérios de exclusão</i>	34
4.2.4	<i>Cálculo do tamanho amostral</i>	34
4.2.5	<i>Protocolo clínico</i>	35
4.3	Genotipagem	38
4.3.1	<i>Extração de DNA genômico humano</i>	38
4.3.2	<i>Reação de polimerase em cadeia em tempo real (RT-PCR)</i>	39
4.4	Análise estatística	40
4.5	Análise farmacocinética populacional	41
5	RESULTADOS	44
5.1	Análise da GAB em plasma e urina por CLAE-UV	44
5.2	Etapa clínica	52
5.2.1	<i>Participantes</i>	52
5.2.2	<i>Determinação da concentração plasmática mínima de GAB no estado de equilíbrio e da quantidade de GAB excretada inalterada na urina</i>	55
5.2.3	<i>Correlação entre a concentração plasmática mínima no estado de equilíbrio e as possíveis covariáveis</i>	57
5.2.4	<i>Extração de DNA genômico humano</i>	59

5.2.5 Genotipagem dos polimorfismos por reação de polimerase em cadeia em tempo real (RT-PCR)	60
5.2.6 Regressão linear múltipla da GAB	62
5.2.7 Análise farmacocinética populacional	63
6 DISCUSSÃO.....	71
6.1 Análise da GAB em plasma e urina por CLAE-UV	71
6.2 Farmacocinética clínica da GAB	74
7 CONCLUSÕES.....	82
REFERÊNCIAS	83
ANEXOS.....	94
APÊNDICES	102

1 INTRODUÇÃO

A gabapentina (GAB) é um anticonvulsivante de segunda geração indicado, no Brasil, para o tratamento de epilepsia e dor neuropática. É utilizada na clínica como tratamento de primeira escolha para diversos tipos de dor neuropática (Attal e tal., 2010). Este fármaco apresenta biodisponibilidade oral variável, não é metabolizado e não se liga à proteínas plasmáticas (Stewart et al., 1993; Patsalos et al., 2008; Patsalos et al., 2017). A excreção urinária é a principal forma de eliminação da GAB e dados da literatura sugerem que o clearance renal envolve a secreção tubular via transporte mediado por transportadores de cátions orgânicos (OCT2 e OCTN1) (Urban et al., 2008; Lal et al., 2010). Os genes *SLC22A2* e *SLC22A4* que codificam os transportadores OCT2 e OCTN1, respectivamente, são polimórficos. O polimorfismo de base única (SNP) *SLC22A4* c.1507C>T apresenta frequência de 32,9% em brasileiros da região sudeste e dados da literatura demonstram que a especificidade do transportador OCTN1 por diversos de seus substratos é alterada na presença deste SNP (Urban et al., 2008; Refargen, 2014; Bonifaz-Peña et al., 2014). Por outro lado, o polimorfismo *SLC22A2* c.808G>T, com frequência de 11,9% em brasileiros está relacionado a redução da atividade de OCT2 (Choi; Song, 2008; Song et al., 2008; Wang et al., 2008; Refargen, 2014; Bonifaz-Peña et al., 2014). Tendo em vista que a GAB tem sido descrita como substrato de OCT2 e OCTN1, espera-se que o polimorfismo genético dos transportadores possa explicar, pelo menos parcialmente, a variabilidade na disposição cinética da GAB.

Devido a ausência de metabolismo e ausência de ligação as proteínas plasmáticas em humanos, a GAB pode ser considerada um bom modelo para o estudo dos transportadores OCT2 e OCTN1. Este estudo clínico foi realizado em pacientes em uso contínuo da GAB para a investigação do impacto dos polimorfismos *SLC22A2* c.808G>T e *SLC22A4* c.1507C>T nos seus principais parâmetros farmacocinéticos.

7 CONCLUSÕES

1. Os métodos de análise da GAB em plasma e urina foram desenvolvidos e validados em CLAE-UV após derivação com 1-flúor-2,4-dinitrobenzeno (FDNB). Os métodos foram validados para as faixas de concentração de 200 a 14.000 ng/mL para o plasma e de 2 a 120 µg/mL para a urina, com limites de quantificação de 200 ng/mL e 2 µg/mL, respectivamente. A precisão, a exatidão e a estabilidade dos métodos foram compatíveis com a determinação da GAB em pacientes tratados com doses múltiplas.

2. A taxa de filtração glomerular estimada e a dose diária foram identificadas como covariáveis da concentração plasmática mínima no estado de equilíbrio ($C_{p_{\min}}$), sendo que juntos estes fatores explicam 68% da variabilidade nas concentrações. Não houve correlação entre peso corporal, IMC, sexo ou genótipo de *SLC22A2* c.808G>T e *SLC22A4* c.1507C>T com a razão $C_{p_{\min}}/DD$ da GAB para os participantes investigados.

3. A análise farmacocinética populacional mostrou que embora tenha sido avaliada uma pequena quantidade de dados (n=212), os parâmetros farmacocinéticos estimados foram próximos aos descritos na literatura. Portanto, a amostragem esparsa realizada mostrou-se eficaz para a análise populacional. Além disso, a função renal foi a única covariável que mostrou influenciar no processo de eliminação e a farmacogenética de OCT2 e OCTN1 não altera a farmacocinética da GAB.

REFERÊNCIAS

1. Ahmed GF, Bathena SP, Brundage RC, Leppik IE, Conway JM, Schwartz JB, et al. Pharmacokinetics and saturable absorption of gabapentin in nursing home elderly patients. *AAPS J.* 2017 mar; 19 (2): 551-556.
2. Almeida AM, Castelo-Branco MM, Falcão AC. Linear regression for calibration lines revisited: weighting schemes for bioanalytical methods. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2002 jul; 774 (2): 215-22.
3. André P, Navy J, Decosterd LA, Buclin T, Rothuizen LE. Therapeutic drug monitoring of antiepileptic drugs in the 21st century. *Epileptologie* 2015; 32: 78-84.
4. Armijo JA, Pena MA, Adin J, Vega-Gil N. Association between patient age and gabapentin serum concentration-to-dose ratio: a preliminary multivariate analysis. *Ther Drug Monit.* 2004 dez; 26 (6): 633-7.
5. Asconapé JJ. Use of antiepileptic drugs in hepatic and renal disease. *Handb Clin Neurol.* 2014; 119: 417-32.
6. Attal N, Cruccu G, Haanpää M, Hansson P, Jensen TS, Nurmikko T. EFNS guidelines on pharmacological treatment of neuropathic pain. *Eur J Neurol.* 2010 nov; 13 (10): 1153-69.
7. Backonja M, Beydoun A, Edwards KR, Schwartz SL, Fonseca V, Hes M, et al. Gabapentin for the symptomatic treatment of painful neuropathy in patients with diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *JAMA.* 1998 dez; 280 (21): 1831-6.
8. Backonja MM, Canafax DM, Cundy KC. Efficacy of gabapentin enacarbil vs placebo in patients with postherpetic neuralgia and a pharmacokinetic comparison with oral gabapentin. *Pain Med.* 2011 jul; 12 (7): 1098-108.
9. Benarroch EE. Blood-brain barrier: recent developments and clinical correlations. *Neurology* 2012 abr; 78 (16): 1268-76.
10. Benet LZ, Broccatelli F, Oprea TI. BDDCS applied to over 900 drugs. *AAPS J.* 2011 dez; 13 (4): 519-47.
11. Bennett DLH. Informed drug choices for neuropathic pain. *Lancet Neurol.* 2015 fev; 14 (2): 129-30.
12. Blum RA, Comstock TJ, Sica DA, Schultz RW, Keller E, Reetze P, et al. Pharmacokinetics of gabapentin in subjects with various degrees of renal function. *Clin Pharmacol Ther.* 1994 ago; 56 (2): 154-9.
13. Bockbrader HN, Breslin EM, Underwood BA, Posvar EL, Sedman AJ. Multiple-dose, dose-proportionality study of Neurontin® (gabapentin) in healthy volunteers. *Epilepsia* 1996; 37 Suppl. 5: 1-214.
14. Bockbrader HN, Wesche D, Miller R, Chapel S, Janiczek N, Burger P. A comparison of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of pregabalin and gabapentin. *Clin Pharmacokinet.* 2010 out; 49 (10): 661-9.

15. Bockbrader HN. Clinical Pharmacokinetics of Gabapentin. *Drugs Today* 1995; 31 (8): 613-619.
16. Bonifaz-Peña V; Contreras AV, Struchiner CJ, Roela RA, Furuya-Mazzotti TK, Chammas R, et al. Exploring the distribution of genetic markers of pharmacogenomics relevance in Brazilian and Mexican populations. *PLoS One* 2014 nov; 9 (11): e112640.
17. Boyd RA, Turck D, Abel RB, Sedman AJ, Bockbrader HN. Effects of age and gender on single-dose pharmacokinetics of gabapentin. *Epilepsia* 1999 abr; 40 (4): 474-9.
18. Brandt C, May TW. Therapeutic drug monitoring of newer antiepileptic drugs. *J Lab Med.* 2011 jun; 35 (3): 161-169.
19. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 27, de 17 de maio de 2012. Dispõe sobre os requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos. *Diário Oficial da União*, maio 2012b; Seção 1, p. 93-94.
20. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 6, de 18 de fevereiro de 2014. Dispõe sobre a atualização do Anexo I, Listas de Substâncias Entorpecentes, Psicotrópicas, Precursoras e Outras sob Controle Especial, da Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998 e dá outras providências. *Diário Oficial da União* fev 2014; Seção 1, p. 68-73.
21. Brasil. Ministério da Saúde - Secretaria de Atenção à Saúde. Portaria Nº 1803, de 02 de outubro de 2012. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Dor Crônica. *Diário Oficial da União* out 2012a; Seção 1, p. 54-58.
22. Butt DA, Lock M, Lewis JE, Ross S, Moineddin R. Gabapentin for the treatment of menopausal hot flashes: a randomized controlled trial. *Menopause.* 2008 mar-abr; 15 (2): 310-8.
23. Carlsson KC, Schootbrugge M, Eriksen HO, Moberg ER, Karlsson MO, Hoem NO. A population pharmacokinetic model of gabapentin developed in nonparametric adaptive grid and nonlinear mixed effects modeling. *Ther Drug Monit.* 2009 fev; 31 (1): 86-94.
24. Chahbouni A, Sinjewel A, Den Burger JC, Vos RM, Wilhelm AJ, Veldkamp AI, et al. Rapid quantification of gabapentin, pregabalin, and vigabatrin in human serum by ultraperformance liquid chromatography with mass-spectrometric detection. *Ther Drug Monit.* 2013 fev; 35 (1): 48-53.
25. Chen C, Cowles VE, Sweeney M. The intestinal absorption mechanism of gabapentin makes it appropriate for gastroretentive delivery. *Curr Clin Pharmacol.* 2013 fev; 8 (1): 67-72.
26. Choi MK, Song IS. Organic cation transporters and their pharmacokinetic and pharmacodynamic consequences. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2008; 23 (4): 243-53.
27. Clivatti J, Sakata RK, Issy AM. Review of the use of Gabapentin in the Control of Postoperative Pain. *Rev Bras Anesthesiol.* 2009 jan-fev; 59 (1): 87-98.

28. Cobin RH, Goodman NF. American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Position Statement on Menopause-2017 Update. *Endocr Pract.* 2017 jul; 23 (7): 869-880.
29. Da Silva CP, Emídio ES, De Marchi MRR. Method validation using weighted linear regression models for quantification of UV filters in water samples. *Talanta* 2015 jan; 131: 221-227.
30. De Siqueira JTT. Porque a Dor é uma questão também de Saúde Pública! [Internet]. Sociedade Brasileira para Estudo da Dor (SBED); [acesso em 24 fev 2017]. A Dor crônica no Brasil - o que nos dizem os estudos que temos. Disponível em: http://www.sbed.org.br/materias.php?cd_secao=74.
31. De Souza JB, Grossmann E, Perissinotti DMN, de Oliveira Junior JO, da Fonseca PRB, Posso IP. Prevalence of chronic pain, treatments, perception, and interference on life activities: Brazilian population-based survey. *Pain Res Manag.* 2017 set; 2017: 4643830.
32. Deeb S, McKeown DA, Torrance HJ, Wylie FM, Logan BK, Scott KS. Simultaneous analysis of 22 antiepileptic drugs in post-mortem blood, serum and plasma using LC-MS-MS with a focus on their role in forensic cases. *J Anal Toxicol.* 2014 out; 38 (8): 485-94.
33. Del Amo EM, Urtti A, Yliperttula M. Pharmacokinetic role of L-type amino acid transporters LAT1 and LAT2. *Eur J Pharm Sci.* 2008 out; 35 (3): 161-74.
34. Dickens D, Webb SD, Antonyuk S, Giannoudis A, Owen A, Radisch S, et al. Transport of gabapentin by LAT1 (SLC7A5). *Biochem Pharmacol.* 2013 jun; 85 (11): 1672-83.
35. Dresser MJ, Leabman MK, Giacomini KM. Transporters involved in the elimination of drug in the kidney: organic anion transporters and organic cation transporters. *J Pharm Sci.* 2001 abr; 90 (4): 397-421.
36. Dupont WD, Plummer WD Jr. PS power and sample size program available for free on the internet. *Control Clin Trials.* 1997; 18 (3): 274.
37. Ebrahimzadeh H, Yamini Y, Firozjaei HA, Kamarei F, Tavassoli N, Rouini MR. Hollow fiber-based liquid phase microextraction combined with high-performance liquid chromatography for the analysis of gabapentin in biological samples. *Anal Chim Acta.* 2010 abr; 665 (2): 221-6.
38. EMA. European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on Bioanalytical Method Validation. Londres: European Medicines Agency, jul 2011 [acesso em 04 jul 2017]. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/08/WC500109686.pdf.
39. Eroglu C, Allen NJ, Susman MW, O'Rourke NA, Park CY, Ozkan E, et al. Gabapentin receptor alpha2delta-1 is a neuronal thrombospondin receptor responsible for excitatory CNS synaptogenesis. *Cell.* 2009 out; 139 (2): 380-92.

40. FDA. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry: bioanalytical method validation, maio 2001 [acesso em 04 jul 2017]. Disponível em: <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidance/ucm070107.pdf>.
41. Finnerup NB, Attal N, Haroutounian S, McNicol E, Baron R, Dworkin RH, et al. Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: systematic review, meta-analysis and updated NeuPSIG recommendations. *Lancet Neurol*. 2015 fev; 14 (2): 162-173.
42. Fujita T, Urban TJ, Leabman MK, Fujita K, Giacomini KM. Transport of drugs in the kidney by the human organic cation transporter, OCT2 and its genetic variants. *J Pharm Sci*. 2006 jan; 95 (1): 25-36.
43. Fukushima-Uesaka H, Maekawa K, Ozawa S, Komamura K, Ueno K, Shibakawa M, et al. Fourteen novel single nucleotide polymorphisms in the SLC22A2 gene encoding human organic cation transporter (OCT2). *Drug Metab Pharmacokinet*. 2004 jun; 19 (3): 239-44.
44. Furugen A, Ishiguro Y, Kobayashi M, Narumi K, Nishimura A, Hirano T, et al. Involvement of L-type amino acid transporter 1 in the transport of gabapentin into human placental choriocarcinoma cells. *Reprod Toxicol*. 2017 jan; 67: 48-55.
45. Futatsugi A, Masuo Y, Kawabata S, Nakamichi N, Kato Y. L503F variant of carnitine/organic cation transporter 1 efficiently transports metformin and other biguanides. *J Pharm Pharmacol*. 2016 set; 68 (9): 1160-9.
46. Galitz LA, Jayawardena S, Furey SA. Pharmacokinetic effects of simultaneous administration of single-dose gabapentin 500 mg and zolpidem tartrate 10 mg in healthy volunteers: a randomized, open-label, crossover trial. *Drugs R D*. 2015 mar; 15 (1): 71-7.
47. Garcia-Borreguero D, Larrosa O, de la Llave Y, Verger K, Masramon X, Hernandez G. Treatment of restless legs syndrome with gabapentin: a double-blind, cross-over study. *Neurology*. 2002 nov; 59 (10): 1573-9.
48. Giacomini KM, Huang SM. Transporters in drug development and clinical pharmacology. *Clin Pharmacol Ther*. 2013 jul; 94 (1): 3-9.
49. Gidal BE, Decerce J, Bockbrader HN, Gonzalez J, Kruger S, Pitterle ME, et al. Gabapentin bioavailability: effect of dose and frequency of administration in adult patients with epilepsy. *Epilepsy Res*. 1998 jul; 31 (2): 91-9.
50. Gidal BE, Maly MM, Budde J, Lensmeyer GL, Pitterle ME, Jones JC. Effect of a high-protein meal on gabapentin pharmacokinetics. *Epilepsy Res*. 1996 fev; 23 (1): 71-6.
51. Glerum PJ, Yu Y, Yamada WM, Neely MN, Maliepaard M, Burger DM, et al. Interchangeability of generic drugs: a nonparametric pharmacokinetic model of gabapentina generic drugs. *Clin Pharmacol Ther*. 2018 jan; doi: 10.1002/cpt.1023.
52. Goa KL, Sorkin EM. Gabapentin: A review of its pharmacological properties and clinical potential in epilepsy. *Drugs* 1993 set; 46 (3): 409-427.

53. Goldberg DS, McGee S. Pain as a global public health priority. *BMC Public Health* 2011 out; 11: 770.
54. Gordi T, Hou E, Kasichayanula S, Berner B. Pharmacokinetics of gabapentin after a single day and at steady state following the administration of gastric-retentive-extended-release and immediate-release tablets: a randomized, open-label, multiple-dose, three-way crossover, exploratory study in healthy subjects. *Clin Ther*. 2008 maio; 30 (5): 909-16.
55. Gujral RS, Haque SM. A validated method without derivatization for the determination of gabapentin in bulk, pharmaceutical formulation and human urine samples. *Int J Biomed Sci*. 2009 jan; 5 (2): 169-74.
56. Guttuso T Jr, Kurlan R, McDermott MP, Kieburtz K. Gabapentin's effects on hot flashes in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol*. 2003 fev; 101 (2): 337-45.
57. Hahn K, Arendt G, Braun JS, von Giesen HJ, Husstedt IW, Maschke M, et al. A placebo-controlled trial of gabapentin for painful HIV-associated sensory neuropathies. *J Neurol*. 2004 out; 251 (10): 1260-6.
58. Hendrich J, Van Minh AT, Heblich F, Nieto-Rostro M, Watschinger K, Striessnig J, et al. Pharmacological disruption of calcium channel trafficking by the alpha2delta ligand gabapentin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008 mar; 105 (9): 3628-33.
59. Hložek T, Bursová M, Coufal P, Čabala R. Gabapentin, pregabalin and vigabatrin quantification in human serum by GC-MS after hexyl chloroformate derivatization. *J Anal Toxicol*. 2016 nov; 40 (9): 749-753.
60. Ikeda K, Ikawa K, Yokoshige S, Yoshikawa S, Morikawa N. Gas chromatography-electron ionization-mass spectrometry quantitation of valproic acid and gabapentin, using dried plasma spots, for therapeutic drug monitoring in in-home medical care. *Biomed Chromatogr*. 2014 dez; 28 (12): 1756-62.
61. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) [Internet]. Indicadores Sociais Mínimos [acesso em 16 out 2017]. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br>.
62. Jalalizadeh H, Souri E, Tehrani MB, Jahangiri A. Validated HPLC method for the determination of gabapentin in human plasma using pre-column derivatization with 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene and its application to a pharmacokinetic study. *J Chromatogr B* 2007 jul; 854 (1-2): 43-7.
63. Johannessen SI, Battino D, Berry DJ, Bialer M, Krämer G, Tomson T, et al. Therapeutic drug monitoring of the newer antiepileptic drugs. *Ther Drug Monit*. 2003 jun; 25 (3): 347-63.
64. Johannessen SI, Tomson T. Pharmacokinetic variability of newer antiepileptic drugs: when is monitoring needed? *Clin Pharmacokinet*. 2006; 45 (11): 1061-75.
65. Juenke JM, Brown PI, Johnson-Davis KL, McMillin G. A. Simultaneous quantification of levetiracetam and gabapentin in plasma by ultra-pressure liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry detection. *Ther Drug Monit*.

2011 abr; 33 (2): 209-13.

66. Kang HA, Cho HY, Lee YB. The effect of MDR1 G2677T/A polymorphism on pharmacokinetics of gabapentin in healthy Korean subjects. *Arch Pharm Res.* 2007b jan; 30 (1): 96-101.

67. Kang HJ, Song IS, Shin HJ, Kim WY, Lee CH, Shim JC, et al. Identification and functional characterization of genetic variants of human organic cation transporters in a Korean population. *Drug Metab Dispos.* 2007a abr; 35 (4): 667-75.

68. Kawasaki Y, Kato Y, Sai Y, Tsuji A. Functional characterization of human organic cation transporter OCTN1 single nucleotide polymorphisms in the Japanese population. *J Pharm Sci.* 2004 dez; 93 (12): 2920-6.

69. Kim KB, Seo KA, Kim SE, Bae SK, Kim DH, Shin JG. Simple and accurate quantitative analysis of ten antiepileptic drugs in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal.* 2011 dez; 56 (4): 771-7.

70. Koepsell H, Lips K, Volk C. Polyspecific organic cation transporters: structure, function, physiological roles, and biopharmaceutical implications. *Pharm Res.* 2007 jul; 24 (7): 1227-51.

71. Koepsell H. The SLC22 family with transporters of organic cations, anions and zwitterions. *Mol Aspects Med.* 2013 abr-jun; 34 (2-3): 413-35.

72. Krasowski MD, McMillin GA. Advances in anti-epileptic drug testing. *Clin Chim Acta* 2014 set; 436: 224-36.

73. Krasowski MD. Therapeutic Drug Monitoring of the Newer Anti-Epilepsy Medications. *Pharmaceuticals* 2010 jun; 3 (6): 1909-1935.

74. Kremer M, Salvat E, Muller A, Yalcin I, Barrot M. Antidepressants and gabapentinoids in neuropathic pain: Mechanistic insights. *Neuroscience* 2016 dez; 338: 183-206.

75. Kühne A, Kaiser R, Schirmer M, Heider U, Muhlke S, Niere W, et al. Genetic polymorphisms in the amino acid transporters LAT1 and LAT2 in relation to the pharmacokinetics and side effects of melphalan. *Pharmacogenet Genomics* 2007 jul; 17 (7): 505-17.

76. Kukkar A, Bali A, Singh N, Jaggi AS. Implications and mechanism of action of gabapentin in neuropathic pain. *Arch Pharm Res.* 2013 mar; 36 (3): 237-51.

77. Lahiri DK, Nurnberger JI Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res.* 1991 out; 19 (19): 5444.

78. Lai Y. *Transporters in Drug Discovery and Development.* Cambridge: Woodhead Publishing Limited; 2013, p. 455-631.

79. Lal R, Ellenbogen A, Chen D, Zomorodi K, Atluri H, Luo W, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-response study to assess the

pharmacokinetics, efficacy, and safety of gabapentin enacarbil in subjects with restless legs syndrome. *Clin Neuropharmacol*. 2012 jul-ago; 35 (4): 165-73.

80. Lal R, Sukbuntherng J, Luo W, Vicente V, Blumenthal R, Ho J, et al. Clinical pharmacokinetic drug interaction studies of gabapentin enacarbil, a novel transported prodrug of gabapentin, with naproxen and cimetidine. *Br J Clin Pharmacol*. 2010 maio; 69 (5): 498-507.

81. Lamb EJ, O'Riordan SE, Delaney MP. Kidney function in older people: pathology, assessment and management. *Clin Chim Acta* 2003 ago; 334 (1-2): 25-40.

82. Landmark C, Beiske G, Baftiu A, Burns MI, Johannessen Si. Experience from therapeutic drug monitoring and gender aspects of gabapentin and pregabalin in clinical practice. *Seizure* 2015 maio; 28: 88-91.

83. Larsen MS, Frolund S, Nohr MK, Nielsen CU, Garmer M, Kreilgaard M, et al. In vivo and in vitro evaluations of intestinal gabapentin absorption: effect of dose and inhibitors on carrier-mediate transport. *Pharm Res*. 2015 mar; 32 (3): 898-909.

84. Leabman MK, Huang CC, Kawamoto M, Johns SJ, Stryke D, Ferrin TE, et al. Polymorphisms in a human kidney xenobiotic transporter, OCT2, exhibit altered function. *Pharmacogenetics* 2002 jul; 12 (5): 395-405.

85. Lee DO, Ziman RB, Perkins AT, Poceta JS, Walters AS, Barrett RW, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study to assess the efficacy and tolerability of gabapentin enacarbil in subjects with restless legs syndrome. *J Clin Sleep Med*. 2011 jun; 7 (3): 282-92.

86. Levendoglu F, Ogün CO, Ozerbil O, Ogün TC, Ugurlu H. Gabapentin is a first line drug for the treatment of neuropathic pain in spinal cord injury. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2004 abr; 29 (7): 743-51.

87. Lin X, Cai Y, Yan J, Zhang L, Wu D, Li H. Determination of gabapentin in human plasma and urine by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *J Chromatogr Sci*. 2015 jul; 53 (6): 986-92.

88. Maneuf YP, Gonzalez MI, Sutton KS, Chung FZ, Pinnock RD, Lee K. Cellular and molecular action of the putative GABA-mimetic, gabapentin. *Cell Mol Life Sci*. 2003 abr; 60 (4): 742-50.

89. Martinc B, Roskar R, Grabnar I, Vovk T. Simultaneous determination of gabapentin, pregabalin, vigabatrin, and topiramate in plasma by HPLC with fluorescence detection. *J Chromatogr B* 2014 jul; 962: 82-8.

90. Matlock B. Assessment of nucleic acid purity. Nota técnica 52646. Wilmington, EUA: Thermo Fisher Scientific, 2015.

91. Mercolini L, Mandrioli R, Amore M, Raggi MA. Simultaneous HPLC-F analysis of three recent antiepileptic drugs in human plasma. *J Pharm Biomed Anal*. 2010 set; 53 (1): 62-7.

92. Milosheska D, Grabnar I, Vovk T. Dried blood spots for monitoring and individualization of antiepileptic drug treatment. *Eur J Pharm Sci.* 2015 jul; 75: 25-39.
93. Mould DR, Upton RN. Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development-part 2: introduction to pharmacokinetic modeling methods. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2013 abr; 2:e38.
94. Muscas GC, Chiroli S, Luceri F, Mastio MD, Balestrieri F, Arnetoli G. Conversion from thrice daily to twice daily administration of gabapentin (GBP) in partial epilepsy: analysis of clinical efficacy and plasma levels. *Seizure* 2000 jan; 9 (1): 47-50.
95. Neels HM, Sierens AC, Naelaerts K, Scharpe SL, Hatfield GM, Lambert WE. Therapeutic drug monitoring of old and newer anti-epileptic drugs. *Clin Chem Lab Med.* 2004; 42 (11): 1228-55.
96. Nguyen TV, Smith DE, Fleisher D. PEPT1 enhances the uptake of gabapentin via trans-stimulation of b⁰⁺ exchange. *Pharm Res.* 2007 fev; 24 (2): 353-60.
97. Oertel R, Arenz N, Pietsch J, Kirch W. Simultaneous determination of three anticonvulsants using hydrophilic interaction LC-MS. *J Sep Sci.* 2009 jan; 32: 238-243.
98. Offord J, Isom LL. Drugging the undruggable: gabapentin, pregabalin and the calcium channel $\alpha 2\delta$ subunit. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2016 jul-ago; 51 (4): 246-56.
99. Omasits U, Ahrens CH, Müller S; Wollscheid B. Protter: interactive protein feature visualization and integration with experimental proteomic data. *Bioinformatics* 2014 mar; 30 (6): 884-886.
100. Paraskevas G, Atta-Polito J, Koupparis M. Spectrophotometric determination of lisinopril in tablets using 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene reagent. *J Pharm Biomed Anal.* 2002 jul; 29 (5): 865-72.
101. Park JH, Jhee OH, Park SH, Lee JS, Lee MH, Shaw LM, et al. Validated LC-MS/MS method for quantification of gabapentin in human plasma: application to pharmacokinetic and bioequivalence studies in Korean volunteers. *Biomed Chromatogr.* 2007 ago; 21 (8): 829-35.
102. Patsalos PN, Berry DJ, Bourgeois BF, Cloyd JC, Glauser TA, Johannessen SI, et al. Antiepileptic drugs-best practice guidelines for therapeutic drug monitoring: a position paper by the subcommission on therapeutic drug monitoring, ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* 2008 jul; 49 (7): 1239-76.
103. Patsalos PN, Zugman M, Lake C, James A, Ratnaraj N, Sander JW. Serum protein binding of 25 antiepileptic drugs in a routine clinical setting: A comparison of free non-protein-bound concentrations. *Epilepsia* 2017 jul; 58 (7): 1234-1243.
104. Peltekova VD, Wintle RF, Rubin LA, Amos CI, Huang Q, Gu X, et al. Functional variants of OCTN cation transporter genes are associated with Crohn disease. *Nat Genet.* 2004 maio; 36 (5): 471-5.

105. Peters FT, Maurer HH. Bioanalytical method validation and its implications for forensic and clinical toxicology – A review. *Accred Qual Assur.* 2002 nov; 7 (11): 441-449.
106. Radulovic LL, Wilder BJ; Leppik E; Bockcrader HN, Chang T, Posvar EL, et al. Lack of interaction of gabapentin with carbamazepine or valproate. *Epilepsia* 1994 jan-fev; 35 (1): 155-61.
107. REFARGEN. Projeto REFARGEN-PGENI [Internet]. Rede Nacional de Farmacogenética. [acesso em 18 nov 2016]. Disponível em: http://www.refargen.org.br/rubrique.php3?id_rubrique=56.
108. Rice ASC, Maton S, Postherpetic Neuralgia Study Group. Gabapentin in postherpetic neuralgia: a randomised, double-blind, placebo controlled study. *Pain* 2001 nov; 94: 215-224.
109. Rocha ABO, Kuminek G, Machado TC, Rosa J, Rauber GS, Borba PAA, et al. Cocristsais: uma estratégia promissora na área farmacêutica. *Quim. Nova* 2016 ago; 39 (9): 1112-1125.
110. Rowbotham M, Harden N, Stacey B, Bernstein P, Magnus-Miller L. Gabapentin for the treatment of postherpetic neuralgia: a randomized controlled trial. *JAMA* 1998 dez; 280 (21): 1837-42.
111. Serpell MG, Neuropathic Pain Study Group. Gabapentin in neuropathic pain syndromes: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Pain* 2002 out; 99: 557-566.
112. Shibata M, Hashi S, Nakanishi H, Masuda S, Katsura T, Yano I. Detection of 22 antiepileptic drugs by ultraperformance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry applicable to routine therapeutic drug monitoring. *Biomed Chromatogr.* 2012 dez; 26 (12): 1519-28.
113. Song IS, Shin HJ, Shim EJ, Jung IS, Kim WY, Shon JH, et al. Genetic variants of the organic cation transporter 2 influence the disposition of metformin. *Clin Pharmacol Ther.* 2008 nov; 84 (5): 559-62.
114. Stewart BH, Kugler AR, Thompson PR, Bockbrader HN. A saturable transport mechanism in the intestinal absorption of gabapentin is the underlying cause of the lack of proportionality between increasing dose and drug levels in plasma. *Pharm Res.* 1993 fev; 10 (2): 276-81.
115. Striano S, Striano P, Capone D, Pisani F. Limited place for plasma monitoring of new antiepileptic drugs in clinical practice. *Med Sci Monit.* 2008 out; 14 (10): RA173-8.
116. Su TZ, Lunney E, Campbell G, Oxender D. Transport of gabapentin, a gamma-amino acid drug, by system L alpha-amino acid transporters: a comparative study in astrocytes, synaptosomes, and CHO cells. *J Neurochem.* 1995 maio; 64 (5): 2125-31.

117. Tai Q, Kirshblum S, Chen B, Millis S, Johnston M, DeLisa JA. Gabapentin in the treatment of neuropathic pain after spinal cord injury: a prospective, randomized, double-blind, crossover trial. *J Spinal Cord Med*. 2002; 25 (2): 100-5.
118. Tjandrawinata RR, Setiawati E, Putri RS, Yunaidi DA, Amalia F, Susanto LW. Single dose pharmacokinetic equivalent study of two gabapentin preparations in healthy subjects. *Drug Des Devel Ther*. 2014 set; 8: 1249-55.
119. Toh DSL, Limenta LMG, Yee JY, Wang LZ, Goh BC, Murray M, et al. Effect of mushroom diet on pharmacokinetics of gabapentin in healthy Chinese subjects. *Br J Clin Pharmacol*. 2014 jul; 78 (1): 129-134.
120. Tran P, Yoo HD, Ngo L, Cho HY, Lee YB. Population pharmacokinetics of gabapentin in healthy Korean subjects with influence of genetic polymorphisms of ABCB1. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2017 dez; 44 (6): 567-579.
121. Türck D, Vollmer Ko, Bockbrader H, Sedman A. Dose-linearity of the new anticonvulsant gabapentin after multiple oral doses. *Eur J Clin Pharmacol*. 1989; 36: A310.
122. Tzvetkov MV, Vormfelde SV, Balen D, Meineke I, Schmidt T, Sehr D, et al. The effects of genetic polymorphisms in the organic cation transporters OCT1, OCT2, and OCT3 on the renal clearance of metformin. *Clin Pharmacol Ther*. 2009 set; 86 (3): 299-306.
123. UCSF. Pharmacogenetics of Membrane Transporters [Internet]. University of California San Francisco. [acesso em 21 mar 2017]. Disponível em: <http://pharmacogenetics.ucsf.edu/index.html>.
124. Urban TJ, Brown C, Castro RA, Shah N, Mercer R, Huang Y, et al. Effects of genetic variation in the novel organic cation transporter, OCTN1, on the renal clearance of gabapentin. *Clin Pharmacol Ther*. 2008 mar; 83 (3): 416-21.
125. Urban TJ, Yang C, Lagpacan LL, Brown C, Castro RA, Taylor TR, et al. Functional effects of protein sequence polymorphisms in the organic cation/ergothioneine transporter OCTN1 (SLC22A4). *Pharmacogenet Genomics*. 2007 set; 17 (9): 773-82.
126. Wang ZJ, Yin OQ, Tomlinson B, Chow MS. OCT2 polymorphisms and in-vivo renal functional consequence: studies with metformin and cimetidine. *Pharmacogenet Genomics*. 2008 jul; 18 (7): 637-45.
127. Wattananat T, Akarawut W. Validated LC-MS-MS method for the determination of gabapentin in human plasma: application to a bioequivalence study. *J Chromatogr Sci*. 2009 nov-dez; 47 (10): 868-71.
128. Winkelman JW, Armstrong MJ, Allen RP, Chaudhuri KR, Ondo W, Trenkwalder C, et al. Practice guideline summary: Treatment of restless legs syndrome in adults: Report of the guideline development, dissemination, and implementation subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2016 dez; 87 (24): 2585-2593.

129. Yagi T, Naito T, Mino Y, Takashina Y, Umemura K, Kawakami J. Rapid and validated fluorometric HPLC method for determination of gabapentin in human plasma and urine for clinical application. *J Clin Pharm Ther.* 2012b fev; 37 (1): 89-94.
130. Yagi T, Naito T, Mino Y, Umemura K, Kawakami J. Impact of concomitant antacid administration on gabapentin plasma exposure and oral bioavailability in healthy adult subjects. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2012a; 27 (2): 248-54.
131. Yoon H, Cho HY, Yoo HD, Kim SM, Lee YB. Influences of organic cation transporter polymorphisms on the population pharmacokinetics of metformin in healthy subjects. *AAPS J.* 2013 abr; 15 (2): 571-80.