



UAAlg FCT

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

Farmacoresistência a anti-epiléticos e novas abordagens de tratamento

Hugo Daniel de Sousa Saraiva

Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação de:
Professora Doutora Ana Serralheiro

2019



UAlg **FCT**

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

Farmacoresistência a anti-epiléticos e novas abordagens de tratamento

Hugo Daniel de Sousa Saraiva

Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação de:
Professora Doutora Ana Serralheiro

2019

Farmacorresistência a antiepiléticos e novas abordagens de tratamento.

Declaração de autoria de trabalho:

Declaro ser o autor deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

(Hugo Saraiva)

Copyright© 2019 Hugo Daniel de Sousa Saraiva

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

*“Dedico esta monografia a toda a minha família por todos os sacrifícios que fizeram
para que conseguisse terminar este curso”*

“Agradeço à minha orientadora pela paciência e pela a ajuda que me prestou para
realizar esta monografia.”

Resumo:

A epilepsia é um distúrbio neurológico comum que afeta, aproximadamente, 70 milhões de pessoas em todo o mundo. Apesar da recente introdução de novos fármacos antiepiléticos, cerca de um-terço dos doentes com epilepsia apresentam resistência à terapêutica, continuando a exibir crises. A identificação precoce de doentes que se possam tornar refratários pode ajudar a direcioná-los para um tratamento não-farmacológico mais apropriado, mas a complexidade por detrás dos padrões da epilepsia pode dificultar essa identificação. A hipótese do alvo e a hipótese do transportador são as teorias mais citadas que tentam explicar a epilepsia refratária, mas nenhuma teoria sozinha explica a base neurobiológica subjacente à farmacoresistência. Esta monografia resume evidências a favor e contra as principais hipóteses, incluindo a hipótese farmacocinética, hipótese da rede neural, hipótese da gravidade intrínseca, hipótese da variação genética, hipótese do alvo e hipótese do transportador. A discussão concentra-se, em grande parte na hipótese do transportador, onde os dados clínicos e experimentais são discutidos sobre a superexpressão de transportadores de múltiplos fármacos, mecanismos de regulação positiva do transportador, polimorfismos dos transportadores e uso de inibidores do transportador. Por fim, são apresentadas perspectivas futuras para o aperfeiçoamento das hipóteses já existentes e o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, orientadas pelo conhecimento atual sobre a epilepsia refratária.

Palavras-chaves: Epilepsia, Epilepsia Refratária, Glicoproteína-P, Hipótese do transportador, Hipótese do alvo

Abstract:

Epilepsy is a common neurological disorder that affects approximately 70 million people worldwide. Despite the recent introduction of new antiepileptic drugs, about one-third of epilepsy patients are resistant to therapy and continue to display seizures. Early identification of refractory individuals may help direct them to more appropriate non-pharmacological treatment, but the complexity behind epilepsy patterns may make this identification difficult. The target hypothesis and the transporter hypothesis are the most cited theories that attempt to explain refractory epilepsy, but no theory alone explains the neurobiological basis behind pharmacoresistance. This thesis summarizes evidence for and against major pharmacoresistance hypotheses, including the pharmacokinetic hypothesis, neural network hypothesis, intrinsic gravity hypothesis, genetic variation hypothesis, target hypothesis, and carrier hypothesis. The discussion focuses largely on the carrier hypothesis, wherein clinical and experimental data are discussed on the overexpression of multidrug carriers, carrier up-regulation mechanisms, carrier polymorphisms, and use of carrier inhibitors. Finally, future perspectives are presented for the improvement of existing hypotheses and the development of new therapeutic strategies, guided by current knowledge about refractory epilepsy.

Keywords: epilepsy, refractory epilepsy, P-glycoprotein, transporter hypothesis, target hypothesis

Índice

<i>Índice de figuras</i>	<i>xi</i>
<i>Índice de tabelas</i>	<i>xiii</i>
<i>Lista de abreviaturas:</i>	<i>xv</i>
1. Epilepsia	1
1.1. Epidemiologia da epilepsia	2
1.2. Fisiopatologia	2
1.3. Classificação da epilepsia	4
1.3.1. Tipo de Crises	5
1.3.2. Tipo de Epilepsia	6
1.3.3. Síndrome epilética	7
1.4. Etiologia	7
1.4.1. Etiologia estrutural	7
1.4.2. Etiologia genética	7
1.4.3. Etiologia infecciosa	8
1.4.4. Etiologia metabólica	8
1.4.5. Etiologia imunológica	9
1.4.6. Etiologia desconhecida	9
2. Evolução dos Fármacos Antiepiléticos	11
2.1. Fármacos de 1ª geração	12
2.2. Fármacos de segunda geração	15
2.3. Fármacos de terceira geração	17
3. Epilepsia Refratária	19
3.1. Possíveis mecanismos de resistência a antiepiléticos	19
3.1.1. Hipótese Farmacocinética.....	20
3.1.2. Hipótese da Rede Neuronal	21
3.1.3. Hipótese da Gravidade Intrínseca.....	22
3.1.4. Hipótese da Variação Genética.....	22
3.1.4. Hipótese do Alvo	24
3.1.5. Hipótese do Transportador	25
3.1.5.1. Glicoproteína-P.....	26
3.1.5.2. Proteínas Associadas à Resistência a Múltiplos Fármacos	26
3.1.5.3. Proteína de Resistência ao Cancro da Mama.....	27
3.1.5.4. Superexpressão de Transportadores de Efluxo na Epilepsia Refratária	27
3.1.5.5. Transporte de Antiepiléticos por Transportadores Efluxo	29
3.1.5.6. Mecanismo de regulação positiva do transportador de efluxo	30
3.1.5.7. Polimorfismos nos transportadores de efluxo e a resposta a antiepiléticos	32
.....	32
4. Perspetivas Futuras	37
4.1. Estado atual e desenvolvimento futuro das <i>guidelines</i> terapêuticas	37
4.2. Futuro desenvolvimento das hipóteses atuais	37

4.3. Estratégias de tratamento	38
5. Conclusão.....	41
<i>Bibliografia</i>	43

Índice de figuras

Figura 1.1 – Modelo do foco epileptogénico	4
Figura 1.2 – Quadro de classificação da Epilepsia	4
Figura 1.3 – Classificação operacional expandida das crises, ILAE 2017	5
Figura 2.1 – Gráfico que relaciona o número de fármacos aprovados com o respetivo ano de aprovação	11
Figura 3.1 – Hipóteses propostas sobre o mecanismo por detrás da epilepsia refratária.....	19

Índice de tabelas

Tabela 2.1 – Tabela que identifica o ano de aprovação, principal indicação terapêutica e mecanismo de ação dos fármacos pertencentes à 1 ^a geração de antiepiléticos	12
Tabela 2.2 – Tabela que identifica o ano de aprovação, principal indicação terapêutica e mecanismo de ação dos fármacos pertencentes à 2 ^a geração de antiepiléticos	15
Tabela 2.3 – Tabela que identifica o ano de aprovação, principal indicação terapêutica e mecanismo de ação dos fármacos pertencentes à 3 ^a geração de antiepiléticos	17
Tabela 3.1 – Efeitos funcionais dos alelos *2 e *3 do CYP2C9	23

Lista de abreviaturas:

EEG	Eletroencefalograma
AVC	Acidente vascular cerebral
VIH	Vírus da imunodeficiência humana
NMDA	N-metil-D-aspartato
LGI1	<i>leucine-rich glioma-inactivated protein 1</i>
GABA	Ácido γ -aminobutírico
AMPA	Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico
BHE	Barreira hematoencefálica
P-gp	Glicoproteína-P
ELT	Epilepsia do lobo temporal
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Polimorfismo de um único nucleótido
ABC	<i>ATP-binding cassette</i>
BCRP/ABCG2	Proteína de resistência ao cancro da mama
DNT	Tumores disembrionoplásticos neuroepiteliais
FCD	Displasia cortical focal
SE	<i>Status epilepticus</i>
PET	Tomografia de emissão de positrões não invasiva
MP	Ácido 3-mercaptopropiónico
RM	Ressonância magnética

1. Epilepsia

A Epilepsia é um distúrbio crónico e de natureza progressiva caracterizado por episódios periódicos, imprevisíveis e recorrentes de crises convulsivas decorrentes de descargas elétricas anormais de alta frequência, num determinado grupo de neurónios cerebrais[1]. Crise epilética é definida como “*a presença de sinais e/ou sintomas transitórios resultantes de uma atividade neuronal síncrona e excessiva*”[2]. Atualmente, a Epilepsia não deve ser considerada uma condição patológica única mas sim uma família de várias disfunções cerebrais que englobam diferentes tipos de crises ou síndromes com sintomas heterogéneos e etiologias variadas[3].

Os sintomas de uma crise epilética são determinados pelo local do cérebro onde ocorre a descarga paroxística e da forma como esta se propaga para as diferentes zonas do cérebro[1], existindo vários tipos de crises epiléticas em função dos sintomas que estas originam ou manifestam. Sob o ponto de vista clínico atual, o diagnóstico de epilepsia apenas pode ser estabelecido após ocorrência de uma segunda crise espontânea e pressupõe a presença de fatores predisponentes a que ocorra uma nova crise[4]

Não existe uma idade específica para o surgimento ou desenvolvimento de epilepsia. Trata-se de uma doença associada a um risco elevado de morbilidade e mortalidade, influenciando de forma considerável a qualidade de vida das pessoas. Um doente epilético pode estar sujeito a vários entraves a uma vida “normal” por ser geralmente impedido de obter carta de condução (Decreto-Lei nº45/2005)[5], e por apresentar dificuldades em obter emprego e em mantê-lo, pelo facto das crises apresentarem um carácter espontâneo e imprevisível, entre outras condicionantes.

Nas suas formas mais graves a doença é extremamente debilitante e quando não é controlada pode chegar a ser fatal.

Durante longos séculos, os doentes epiléticos foram lamentavelmente marginalizados. O aumento do conhecimento referente à doença e as suas bases fisiopatológicas assim como o desenvolvimento de diferentes opções terapêuticas, permitiu que o conceito de epilepsia fosse gradualmente modificado, promovendo nos dias de hoje um melhor controlo dos doentes epiléticos e uma completa integração tanto a nível social como a nível familiar.

1.1. Epidemiologia da epilepsia

A nível nacional, estima-se que o número de doentes com epilepsia corresponda a 4-7 pessoas por cada mil habitantes[6]. Considerando que Portugal tem sensivelmente 10,31 milhões de habitantes, os dados apontam para a existência de cerca de 41 a 72 mil portugueses afetados pela doença. De um modo geral, observa-se uma prevalência mais elevada nos dois extremos da faixa etária (crianças e idosos)[7], estabilizando entre os 15-65 anos de idade[3].

Mundialmente, aproximadamente 70 milhões de pessoas sofrem desta patologia, de entre as quais cerca de 40 milhões vivem em países em desenvolvimento[1]. Curiosamente, um-terço dos doentes apresenta uma epilepsia refratária, que se caracteriza pela ocorrência de crises incontroláveis mesmo sob uma terapêutica farmacológica anti-convulsivante[8].

1.2. Fisiopatologia

O cérebro é o órgão que controla todas as funções vitais do organismo através de sinais elétricos, também designados por impulsos nervosos, transmitidos ao longo dos neurónios. Os neurónios são células nervosas condutoras que conduzem a informação aos diferentes pontos do corpo através do sistema nervoso central e periférico.

Em condições normais, os neurónios possuem carga negativa no seu interior, sendo este estado genericamente definido como **potencial de membrana de repouso**. O neurónio é sensível a qualquer estímulo físico ou químico que leve à alteração deste potencial. A alteração mais brusca que um neurónio sofre é o **impulso nervoso** ou **potencial de ação**, verificando-se uma rápida alteração do potencial elétrico no seu interior[9]. O potencial de membrana de repouso resulta da diferença entre as concentrações de iões Na^+ e de K^+ dentro e fora da célula, que por sua vez é mantida devido à presença de canais iónicos e bombas transportadoras que bombeiam 3 iões Na^+ para fora e 2 iões K^+ para dentro da célula, com consumo de ATP para contrariar a difusão iónica a favor do gradiente de concentração[9]. Em repouso, os canais iónicos encontram-se fechados, verificando-se a sua abertura quando a célula é estimulada, permitindo assim uma rápida difusão de Na^+ , convertendo a carga do interior da célula para positiva com a consequente despolarização e modificação da estabilidade membranar. Quando o potencial de ação atinge o seu máximo durante a despolarização, aumenta a

permeabilidade da membrana ao K^+ , e a permeabilidade dos canais ao Na^+ volta ao normal até atingir novamente a condição de repouso[9].

Uma crise é causada pela despolarização súbita e descontrolada dos neurónios, resultando numa atividade motora e sensorial anormal em que pode ocorrer ou não a perda de consciência. O exato mecanismo celular por de trás das crises não é totalmente conhecido, mas existem possíveis teorias que se baseiam na alteração da permeabilidade das membranas, redução do controlo neuronal inibitório ou o desequilíbrio entre os neurotransmissores excitatórios e inibitórios[10].

Em termos simplísticos, uma convulsão resulta do desequilíbrio entre excitação e inibição neuronais[11], culminando numa hiperexcitação e hipersincronização da rede neuronal[10]. Alterações nos iões e neurotransmissores resultam em hiperexcitação, ao passo que a perda de neurónios inibitórios leva a que haja um aumento da hipersincronização, o que pode levar a uma crise focal ou generalizada, dependendo da forma como esta se propaga[10].

As propriedades da membrana neuronal podem sofrer alterações devido a condições de hipóxia, alcalose, hipoglicemia e a propriedades anormais dos neurotransmissores. Estas alterações podem induzir uma libertação de um grande número de neurotransmissores na fenda sináptica o que pode desencadear uma crise[10].

Os neurónios pertencentes ao foco epileptogénico exibem um limiar de estimulação reduzido, adquirindo um carácter hiperexcitável. Estes neurónios irritáveis são facilmente ativados por qualquer alteração fisiológica e em determinadas situações, tais como, fadiga, falta de sono, stress, febre ou obstipação podem promover a redução do limiar despoletando uma crise[10]. Existem outros fatores que também podem levar ao desencadeamento de uma crise em certas pessoas, estes incluem estímulos físicos como barulhos elevados ou luzes intensas, ou estímulos bioquímicos, tais como, retenção excessiva de líquidos, hipoglicemia, mudança de medicação, alcalose, suspensão repentina de sedativos ou consumo de álcool[10].

O Foco epileptogénico consiste numa região definida do cérebro que se comporta como uma rede de numerosas estruturas corticais unidas através de contactos privilegiados a partir do reforço sináptico e é constituída por 5 zonas distintas: **zona irritativa**, **zona do início ictal**, **zona sintomatogénica**, **zona lesional** e **zona de déficit funcional**. A Zona irritativa corresponde ao local onde ocorrem as descargas paroxísticas interictais. A Zona de início ictal

é a área do córtex na qual as crises epiléticas têm início. A Zona de origem dos sintomas ou Zona sintomatogénica expressa os sinais e os sintomas que podem ser observados nos 10 segundos iniciais da crise. A Zona lesional corresponde à região cerebral onde são verificadas as alterações

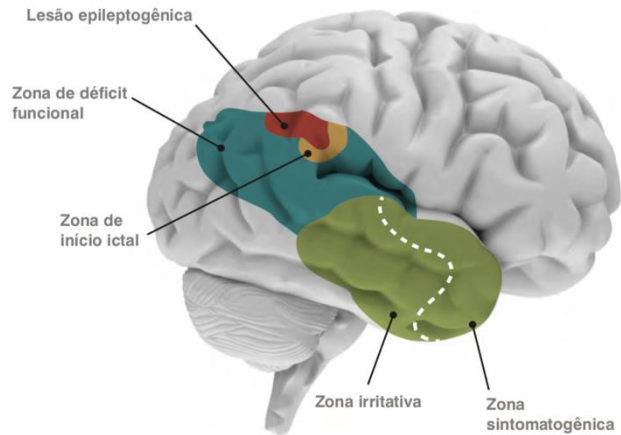


Figura 1.1 - Modelo do foco epileptogénico (Adaptado de [12])

estruturais pelas quais as crises podem ser atribuídas. Finalmente, a Zona de déficit funcional é representada pelos déficits neurológicos, mensurados pelo exame neuropsicológico e pelos estudos de neuroimagem[12].

1.3. Classificação da epilepsia

A classificação da Epilepsia tem vários níveis e foi desenhada para auxiliar a sua identificação e caracterização em diferentes ambientes clínicos[13].

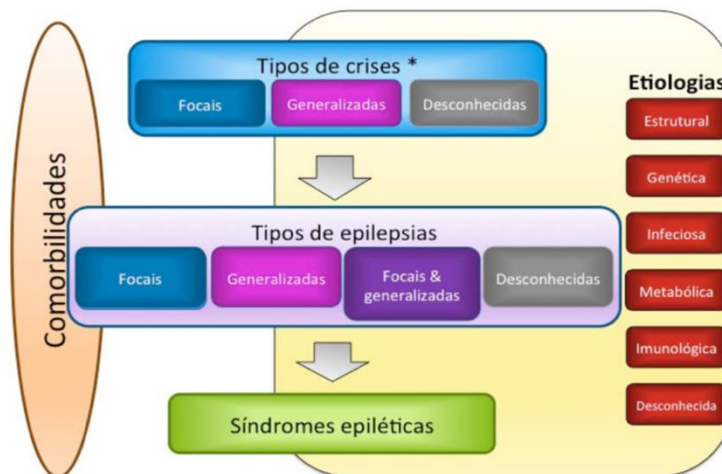


Figura 1.2 - Quadro de classificação da Epilepsia (Adaptado de [13])

O ponto de partida para a classificação da Epilepsia é a classificação do **Tipo de Crise** (primeiro nível), o segundo nível de classificação é o **Tipo de Epilepsia** e o terceiro e último nível é a classificação da **Síndrome Epilética**.

1.3.1. Tipo de Crises

A classificação dos diferentes tipos de crises (Figura 1.3) é fundamental, não só para alcançar uma decisão acertada sobre a terapêutica que deve ser implementada, mas também para que possa existir um melhor entendimento da doença por médicos e por investigadores.

As crises epiléticas podem ser agrupadas em 3 grandes grupos, especificamente, as crises com início focal, com início generalizado e com início desconhecido.

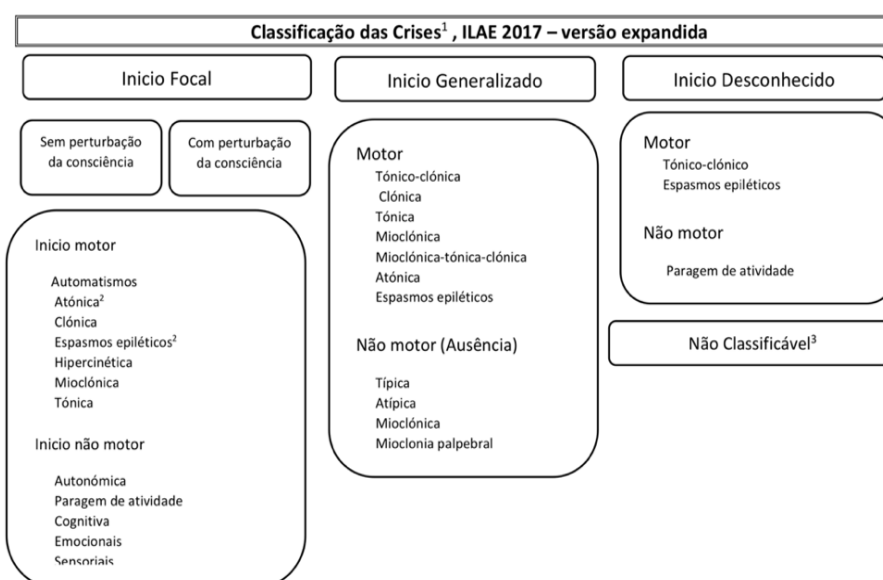


Figura 1.2 - Classificação operacional expandida das crises, ILAE 2017 (Adaptado de [2])

Crises com Início Focal: estas crises são crises em que a atividade epiletogénica tem início e se limita a uma área restrita do córtex cerebral. Estas resultam da ativação de um sistema de neurónios limitados a uma certa região do cérebro, proporcionando um conjunto de primeiras manifestações clínicas e eletroencefalográficas úteis para a identificação do local neuroanatômico onde se deu o início da crise[14]. As crises focais ainda podem ser classificadas em função da existência ou não de perturbação da consciência[14].

Crises com Início Generalizado: ao contrário das crises com início focal, este tipo de crises é caracterizado por apresentar manifestações clínicas e registos eletroencefalográficos que indicam a envolvimento de ambos os hemisférios do cérebro, de forma síncrona e simétrica. Estas, normalmente, têm associados sintomas motores perfeitamente observáveis[14].

Crises de Início Desconhecido: estas crises apresentam fenótipos particulares, não sendo incluídas nas crises de início focal ou com início generalizado[14].

Uma crise pode não ser classificável pelo facto de não existir informação suficiente ou por não ser possível a atribuição de nenhuma das restantes categorias consideradas[2].

1.3.2. Tipo de Epilepsia

Epilepsia Generalizada é caracterizada por um eletroencefalograma (EEG) que mostra atividade epileptiforme de ponta-onda generalizada. Doentes com este tipo de epilepsia podem apresentar diferentes tipos de crises, nomeadamente, as crises mioclónicas, atónicas, tónicas, tónico-clónicas e ausências[13].

Epilepsia Focal é caracterizada por incluir distúrbios uni- ou multifocais bem como crises que envolvem um único hemisfério do cérebro. As crises que existem neste género de epilepsia incluem crises com ou sem preservação da consciência, crises motoras ou não motoras e crises de início focal com evolução para crises tónico-clónicas bilaterais. Tipicamente, o EEG apresentado por doentes com este tipo de epilepsia exhibe descargas epileptiformes de natureza focal e por isso, claramente localizadas[13].

Epilepsia Focal e Generalizada é um novo grupo que foi criado com o objetivo de agrupar os doentes que apresentavam os dois tipos de crises anteriormente mencionados. O EEG nestes casos podem apresentar descargas de ponta-onda generalizadas ou descargas epileptiformes focais, sendo o Síndrome de Dravet e o Síndrome de Lennox-Gastaut exemplos comuns de situações patológicas em que os dois tipos de crises se encontram presentes[13].

O termo de “**Epilepsia Desconhecida**” é utilizado para classificar uma epilepsia quando não existem dados clínicos suficientes para se conseguir classificar como Focal ou Generalizada.

1.3.3. Síndrome epilética

A **Síndrome epilética** refere-se a um conjunto de características que têm tendência a ocorrer em associação e que englobam o tipo de crises, os EEG e as alterações imagiológicas, podendo apresentar implicações etiológicas, prognósticas e terapêuticas[12]. É importante realçar que uma síndrome epilética nem sempre tem uma correlação etiológica específica, mas pode apresentar implicações ao nível da orientação terapêutica[13][12].

1.4. Etiologia

Desde o momento em que o doente apresenta a primeira crise epilética deve-se ter como principal objetivo a identificação da etiologia da doença. Até ao presente, foram já determinados vários grupos etiológicos que vão ter influência na respetiva abordagem ao tratamento, designadamente, a etiologia genética, infecciosa, metabólica, imunológica, estrutural ou desconhecida. A epilepsia de um doente pode ser classificada com mais que um grupo etiológico[13].

1.4.1. Etiologia estrutural

Este tipo de etiologia é referente a uma anomalia estrutural visível na neuroimagem[13]. As etiologias estruturais podem ser adquiridas através de um acidente vascular cerebral (AVC), um traumatismo e infeção, ou até mesmo por malformações do desenvolvimento cortical[13]. Apesar de haver uma relação genética por detrás destas malformações é a estrutura final que determina a existência de epilepsia.

1.4.2. Etiologia genética

O conceito de etiologia genética é aplicado quando a epilepsia é o resultado direto de uma mutação genética ou presumida, cujos principais sintomas são as crises. As epilepsias com etiologia genética são fenotipicamente diferentes das restantes, e normalmente, os genes que estão implicados não são ainda totalmente conhecidos[13].

O exemplo mais conhecido de uma epilepsia com etiologia genética é o Síndrome de Dravet. Nestes doentes, mais de 80% apresenta a variante patogénica do SCN1A, com um espectro de epilepsias que pode variar desde ligeiras a graves. Compreender o espectro fenotípico que se encontra associado às mutações que um determinado gene pode sofrer é uma informação crucial, uma vez que identificar uma mutação no gene, por si só, pode não ser suficiente para prever o desfecho desta alteração[13].

É importante realçar que o termo “genético” não é um sinónimo de “herdado”. Têm sido cada vez mais identificadas mutações *de novo* (que não são herdadas dos progenitores), tanto em epilepsia com mais gravidade como em formas mais ligeiras[15]. Nestes casos, a mutação pode surgir pela primeira vez num determinado doente, sendo pouco provável a existência de uma história familiar de crises. No entanto, isto não quer dizer que a epilepsia em causa não seja hereditária, existindo uma possibilidade de 50% de a sua descendência apresentar a mesma epilepsia[13].

1.4.3. Etiologia infecciosa

Entre todas as etiologias da epilepsia a mais comum é a infecciosa[16]. Este conceito assenta no facto da epilepsia resultar diretamente de uma infeção que é conhecida, como são exemplos a infeção causada pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH), a tuberculose e a malária cerebral[13]. Uma etiologia infecciosa é referente a um doente que possua epilepsia e não um doente que tenha crises sintomáticas agudas que são desencadeadas na fase aguda duma infeção como meningite ou encefalite. Estas infeções têm, em alguns casos, uma correlação estrutural. A etiologia infecciosa pode também se referir a uma epilepsia que surgiu após uma infeção, tendo como exemplo o caso da encefalite vírica que é causadora de crises depois de ter ocorrido a fase aguda da infeção[13].

1.4.4. Etiologia metabólica

O conceito de epilepsia metabólica é utilizado para se referir a uma epilepsia resultante de um distúrbio metabólico conhecido ou presumido, em que as crises são o principal sintoma. As causas metabólicas são referentes a defeitos metabólicos bem definidos com manifestações clínicas ou alterações bioquímicas generalizadas como a porfíria, a uremia, as aminoacidopatias ou as crises piridoxino-dependentes[13].na maioria dos casos, os distúrbios metabólicos advêm de um efeito genético subjacente,

porém é igualmente possível a ausência de qualquer associação genética, como é exemplo a deficiência de folato cerebral[13]. A identificação das causas metabólicas específicas para cada epilepsia é importante devido às correspondentes implicações no tratamento e à potencial prevenção de défice intelectual.

1.4.5. Etiologia imunológica

Este conceito implica a existência de uma correlação direta entre a manifestação de crises convulsivas e a presença de uma perturbação imunológica. Considera-se que a epilepsia é de etiologia imunológica quando se verifica uma inflamação do sistema nervoso central imunologicamente mediada[13]. O diagnóstico destas encefalites autoimunes é cada vez mais frequente, particularmente por cada vez mais ser possível, um maior acesso a testes de anticorpos. Exemplos destas encefalites autoimunes são as encefalites antirreceptor NMDA (N-metil-D-aspartato) e anti-LGII (*leucine-rich glioma-inactivated protein 1*)[17].

Este subgrupo etiológico merece uma atenção especial ao nível das implicações do tratamento e a utilização de imunoterapias dirigidas[13].

1.4.6. Etiologia desconhecida

Esta designação para a etiologia é utilizada quando não se consegue identificar a causa da epilepsia[13].

2. Evolução dos Fármacos Antiepiléticos

A base do tratamento da epilepsia é a terapêutica farmacológica para o controlo das crises. A procura de novas moléculas é movida devido à eficácia limitada que os fármacos existentes apresentam. Esta limitação fez com que nos últimos 25 anos ocorresse uma explosão no desenvolvimento de fármacos antiepiléticos[18], como é possível observar na Figura 2.1.

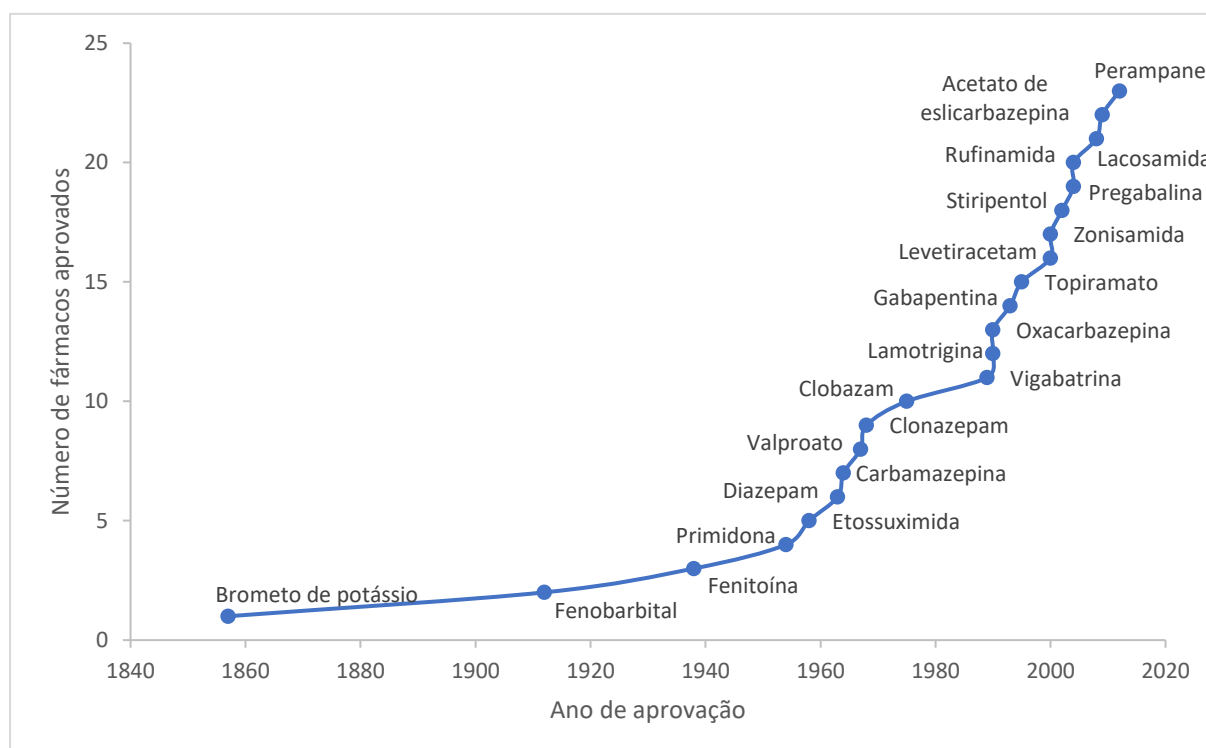


Figura 2.1- Gráfico que relaciona o número de fármacos aprovados com o respetivo ano de aprovação

Até ao momento, é possível afirmar que nenhum dos fármacos antiepiléticos desenvolvidos, incluindo aqueles que são direcionados para alvos terapêuticos recentemente descobertos, pode ser considerado a “*magic bullet*” que vai curar os doentes epiléticos. No entanto, se fizermos a comparação dos fármacos mais antigos (anteriores a 1993) com os fármacos que foram desenvolvidos mais recentemente, estes últimos proporcionam melhorias ao nível da segurança, tolerabilidade e farmacocinética[19].

A existência de mais de 20 fármacos antiepiléticos oferece ao doente uma grande gama de opções terapêuticas, permitindo que haja uma melhor personalização da terapêutica. Cada novo fármaco confere a esperança aos doentes com epilepsia de atingir um estado de total controlo das crises, eliminando-as[19]. Os medicamentos que existem atualmente não são completamente livres de efeito adversos, o que justifica a busca por

uma molécula que apresente melhores efeitos terapêuticos e com menos ou nenhuns efeitos adversos.

Para o desenvolvimento de novos fármacos foram utilizadas, principalmente, 3 abordagens: triagem aleatória de moléculas sintetizadas, variações estruturais de moléculas de antiepiléticos já existentes e desenvolvimento de moléculas direcionadas a alvos nos mecanismos indutores das convulsões[18].

2.1. Fármacos de 1ª geração

Tabela 2.1 - Tabela que identifica o ano de aprovação, principal indicação terapêutica e mecanismo de ação dos fármacos pertencentes à 1ª geração de antiepiléticos[20]

<i>Fármaco</i>	Ano de aprovação	Principal indicação terapêutica	Mecanismo de ação
<i>Brometo de potássio</i>	1857	Tratamento de crises de início generalizado do tipo tônico-clônico e mioclônico	Inibição dos recetores GABA
<i>Fenobarbital</i>	1912	Crises convulsivas de início focal e generalizado	Potenciação da ação mediada pelos recetores GABA
<i>Fenitoína</i>	1938	Tratamento de crises convulsivas de início focal e generalizado	Bloqueio dos canais de Na ⁺ dependentes da voltagem
<i>Primidona</i>	1954	Crises convulsivas com início focal e generalizado	Potenciação da ação mediada pelos recetores GABA
<i>Etossuximida</i>	1958	Crises com ausência de convulsões	Bloqueio dos canais de Ca ²⁺ do tipo-T
<i>Diazepam</i>	1963	Perturbações convulsivas e estados epilépticos	Potenciação da ação mediada pelos recetores GABA
<i>Carbamazepina</i>	1964	Crises convulsivas com início focal e generalizado	Bloqueio dos canais de Na ⁺ dependentes da voltagem
<i>Valproato</i>	1967	Crises convulsivas focais e generalizadas, ausência de convulsões	Potenciação dos recetores GABA, inibição do glutamato (NMDA) e bloqueio dos canais de cálcio do tipo-T
<i>Clonazepam</i>	1968	Síndrome de Lennox-Gastaut, crises mioclônicas	Potenciação da ação mediada pelos recetores GABA

<i>Clobazam</i>	1975	Síndrome de Lennox-Gastaut	Potenciação da ação mediada pelos recetores GABA
-----------------	------	----------------------------	--

- **Brometo de potássio:** O mecanismo de ação deste composto consiste na potenciação da inibição neuronal mediada pelo ácido γ -aminobutírico (GABA) por meio do agonismo dos seus recetores. Devido às suas propriedades sedativas, o brometo de potássio pode ser utilizado como terapêutica adjuvante, porém os seus efeitos adversos ditam a sua aplicação esporádica na atualidade[21].

- **Fenobarbital:** A principal indicação terapêutica consiste no controlo de crises de início focal e generalizado por administração via intravenosa. Em países com poucos recursos é a terapêutica que apresenta melhor relação custo-efetividade. Existem algumas limitações em relação a este fármaco, entre elas estão a hipersensibilidade cutânea, a ineficácia em casos de ausência de convulsões e a indução enzimática. Também apresenta menor efetividade que a carbamazepina ou que a fenitoína para crises com início focal[21].

- **Fenitoína:** Apresenta eficácia idêntica à da carbamazepina. Este fármaco é um indutor enzimático, não apresenta uma farmacocinética linear e desenvolve hipersensibilidade cutânea, sendo estas as suas principais limitações[21].

- **Primidona:** Apresenta as mesmas limitações que o fenobarbital[21], uma vez que este é o seu metabolito ativo.

- **Etossuximida:** Fármaco de primeira linha em crises com ausência de convulsões, exibindo efetividade equivalente ao valproato. Os seus principais efeitos adversos consistem em reações a nível gastrointestinal, insónias e episódios psicóticos[21].

- **Diazepam:** Aprovado para uso em perturbações convulsivas, estados epiléticos, ansiedade e abstinência alcoólica. É principalmente utilizado por via intravenosa, não apresenta hepatotoxicidade clínica, não apresenta hipersensibilidade cutânea e é utilizado em crises de início focal e generalizado. A principal limitação deste fármaco é apresentar

propensão para o desenvolvimento de tolerância, promovendo a diminuição do efeito pretendido. Deste modo, o diazepam é comumente utilizado como terapêutica adjuvante e em casos de emergência. Também apresenta uma capacidade sedativa[21].

- **Carbamazepina:** Aprovada para o uso em crises convulsivas com início focal e generalizado, nevralgia do trigêmio e doença bipolar. É principalmente utilizado como fármaco de primeira linha no tratamento de crises focais e generalizadas com início focal. Atualmente nenhum dos fármacos existentes apresenta eficácia superior à da carbamazepina. As limitações que este fármaco apresenta incluem o seu carácter indutor enzimático, não ter utilidade em casos de ausência e de convulsões mioclónicas e apresentar hipersensibilidade cutânea[21].

- **Valproato:** Também foi aprovado para uso na profilaxia da enxaqueca e doença bipolar. Não existe apenas um mecanismo de ação conhecido, este pode atuar pela potenciação dos recetores GABA, inibição do glutamato e bloqueio dos canais de cálcio do tipo-T. É um fármaco de primeira linha (uso intravenoso) para crises focais e generalizadas uma vez que nenhum dos novos fármacos pertencentes à última geração de anti-convulsivantes e com a mesma indicação terapêutica apresenta eficácia superior. O carácter de indução enzimática, a significativa teratogenicidade e o ganho de peso que se verifica nos doentes que fazem terapêutica com este fármaco são limitações ao seu uso[21].

- **Clonazepam:** Também obteve aprovação para uso em transtornos de pânico. Os seus principais usos são nas crises focais e nas crises generalizadas, não apresentando hepatotoxicidade. As limitações são exibir propriedades sedativas e ser usado como terapêutica adjuvante pelo facto de apresentar predisposição para o desenvolvimento de tolerância[21].

- **Clobazam:** Foi aprovado para o uso no Síndrome de Lennox-Gastaut e transtornos de ansiedade. O principal uso clínico é em crises generalizadas e focais, não apresentando hepatotoxicidade. As limitações deste fármaco são a utilização como adjuvante dado que apresenta uma tolerância considerável e o seu carácter sedativo[21].

2.2. Fármacos de segunda geração

Tabela 1.2 - Tabela que identifica o ano de aprovação, principal indicação terapêutica e mecanismo de ação dos fármacos pertencentes à 2ª geração de antiepiléticos[22][23]

<i>Fármaco</i>	Ano de aprovação	Principal indicação terapêutica	Mecanismo de ação
<i>Vigabatrina</i>	1989	Espasmos infantis, convulsões focais complexas	Potenciação dos recetores GABA
<i>Lamotrigina</i>	1990	Crises convulsivas focais e generalizadas, Síndrome Lennox-Gastaut	Bloqueio dos canais de Na ⁺ dependentes de voltagem
<i>Oxacarbazepina</i>	1990	Crises focais	Bloqueio dos canais de Na ⁺ dependentes de voltagem
<i>Gabapentina</i>	1993	Crises convulsivas focais e generalizadas	Bloqueio dos canais de Ca ²⁺ (subunidade $\alpha 2\delta$)
<i>Topiramato</i>	1995	Crises convulsivas focais e generalizadas, Síndrome de Lennox-Gastaut	Os mecanismos de ação são múltiplos: potenciação dos recetores GABA, inibição do glutamato, bloqueio dos canais de Na ⁺ e Ca ²⁺
<i>Levetiracetam</i>	2000	Crises convulsivas focais e generalizadas, crises focais, convulsões tónico-clónicas generalizadas ao despertar (GTCS) e epilepsia mioclónica juvenil	Modulação da proteína da vesícula sináptica (SV2A)
<i>Zonisamida</i>	2000	Crises focais e generalizadas	Bloqueio dos canais de Na ⁺

- **Vigabatrina** Aprovado para utilização em espasmos infantis, convulsões focais complexas (atualmente é utilizado como terapêutica adjuvante). Os principais usos são os espasmos infantis e as crises focais e generalizadas com início focal. As limitações que este apresenta são não apresentar utilidade terapêutica em crises de ausência e em convulsões mioclónicas, a indução de um défice no campo visual e a possibilidade de provocar um ganho de peso. Apresenta uma menor eficácia em crises focais do que a carbamazepina[21].

- **Lamotrigina:** Também apresenta aprovação para uso em transtornos de ansiedade. O seu principal uso é como fármaco de primeira linha contra crises focais e generalizadas. Ser indutor enzimático, apresentar hipersensibilidade cutânea são as primeiras limitações que este fármaco apresenta. No tratamento de novas crises com início focal apresenta menor eficácia do que o valproato[21].

- **Oxacarbazepina:** É o fármaco de primeira linha para o tratamento de crises focais e generalizadas com início focal. Possui algumas limitações, entre elas estão o facto de ser indutor enzimático, causar hiponatremia e hipersensibilidade cutânea. Não apresenta eficácia na ausência ou convulsões mioclónicas[21].

- **Gabapentina:** Aprovado para uso em crises convulsivas focais e generalizadas, neuralgia pós-herpética e diabética e síndrome das pernas inquietas. Não apresenta hepatotoxicidade clínica e é usado em crises focais e generalizadas com início focal. Atualmente é utilizado para terapêutica adjuvante. Apresenta a limitação de não apresentar eficácia na ausência ou convulsões mioclónicas e pode causar ganho de peso. Apresenta menos eficácia no tratamento de crises focais do que a carbamazepina[21].

- **Topiramato:** Também sofreu aprovação para uso na profilaxia da enxaqueca. Os mecanismos de ação são múltiplos: potenciação dos recetores GABA, inibição do efeito mediado pelo glutamato (através dos recetores AMPA (ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico)), bloqueio dos canais de sódio e cálcio. O principal uso é como fármaco de primeira linha no tratamento de crises focais e generalizadas, sem exibir hepatotoxicidade clínica. As limitações são efeitos adversos cognitivos, surgimento de pedras nos rins, problemas na fala e ganho de peso. É menos eficaz que a carbamazepina no tratamento de crises com início focal[21].

- **Levetiracetam:** É utilizado como fármaco de primeira linha (via intravenosa) no tratamento de crises focais e generalizadas com início focal e convulsões mioclónicas. Não apresenta hepatotoxicidade clínica e apresenta igual eficácia à carbamazepina no tratamento de novas crises focais. Como limitação apresenta efeitos adversos psiquiátricos[21].

- **Zonisamida:** Aprovado para uso em crises focais. É utilizado como fármaco de primeira linha para crises focais e generalizadas, não apresenta hepatotoxicidade clínica e não é inferior à carbamazepina no tratamento de crises com início focal. Como principais limitações descritas apresenta os efeitos adversos a nível cognitivo, surgimento de pedras nos rins, efeito sedativo e perda de peso[21].

2.3. Fármacos de terceira geração

Tabela 2.2 - Tabela que identifica o ano de aprovação, principal indicação terapêutica e mecanismo de ação dos fármacos pertencentes à 3ª geração de antiepiléticos[22][24].

<i>Fármaco</i>	Ano de aprovação	Principal indicação terapêutica	Mecanismo de ação
<i>Stiripentol</i>	2002	Síndrome de Dravet	Potenciação dos recetores GABA e o bloqueio os canais de Na ⁺
<i>Pregabalina</i>	2004	Crises focais e generalizadas com início focal	O mecanismo de ação é o bloqueio de Ca ²⁺ (subunidade $\alpha 2\delta$)
<i>Rufinamida</i>	2004	Síndrome de Lennox-Gastaut	Bloqueio dos canais de Na ⁺ dependentes de voltagem
<i>Lacosamida</i>	2008	Crises focais e generalizadas com início focal	inativação dos canais de Na ⁺ dependentes de voltagem
<i>Acetato de eslicarbazepina</i>	2009	Crises focais e generalizadas com início focal	Bloqueio dos canais de Na ⁺
<i>Perampanel</i>	2012	Crises focais e generalizados com início focal	Antagonismo do glutamato (AMPA)

- **Stiripentol:** O principal uso deste fármaco é para combater as convulsões no Síndrome de Dravet e não apresenta hepatotoxicidade. Atualmente é utilizado como terapêutica adjuvante[21].

- **Pregabalina:** Aprovado para uso em crises focais, dor neuropática, transtornos de ansiedade e fibromialgia. Não apresenta hepatotoxicidade clínica. Atualmente é

utilizado como terapêutica adjuvante e não apresenta eficácia na ausência ou convulsões mioclônicas e pode levar à perda de peso[21].

- **Rufinamida:** Aprovada para uso no Síndrome de Lennox-Gastaut. Utilizado em convulsões no Síndrome de Lennox-Gastaut e não apresenta hepatotoxicidade clínica. Atualmente é utilizado como terapêutica adjuvante[21].

- **Lacosamida:** Aprovado para uso em crises focais. É usado para o tratamento de crises focais e generalizadas com início focal por via intravenosa, não apresenta hepatotoxicidade. Atualmente é utilizado como terapêutica adjuvante[21].

- **Acetato de eslicarbazepina:** Aprovado para uso em crises focais. Atualmente é utilizado como terapêutica adjuvante devido a exibir propriedades de indução enzimática e causar hiponatremia[21].

- **Perampanel:** Aprovado para uso em crises focais. Atualmente é utilizado como terapêutica adjuvante, mas tem a limitação de não ser eficaz na ausência e nas convulsões mioclônicas[21].

3. Epilepsia Refratária

A terapêutica farmacológica com fármacos anti-convulsivantes é o tratamento de primeira linha, contudo um-terço dos doentes não apresenta um controlo efetivo das crises, mostrando-se refratários. Ainda não existe uma definição única e específica de epilepsia refratária ou farmacorresistente, sendo assim designada quando as crises não conseguem ser controladas com a toma de 2 ou 3 fármacos anticonvulsivantes apropriados ao tipo de epilepsia apresentada[8].

A epilepsia refratária está associada a um aumento da morbilidade e da mortalidade, graves consequências psicossociais, problemas cognitivos e redução da qualidade de vida[8].

3.1. Possíveis mecanismos de resistência a antiepiléticos

A compreensão do(s) mecanismo(s) subjacentes à resistência a fármacos anticonvulsivantes tem potencial para que se possam desenvolver outras opções

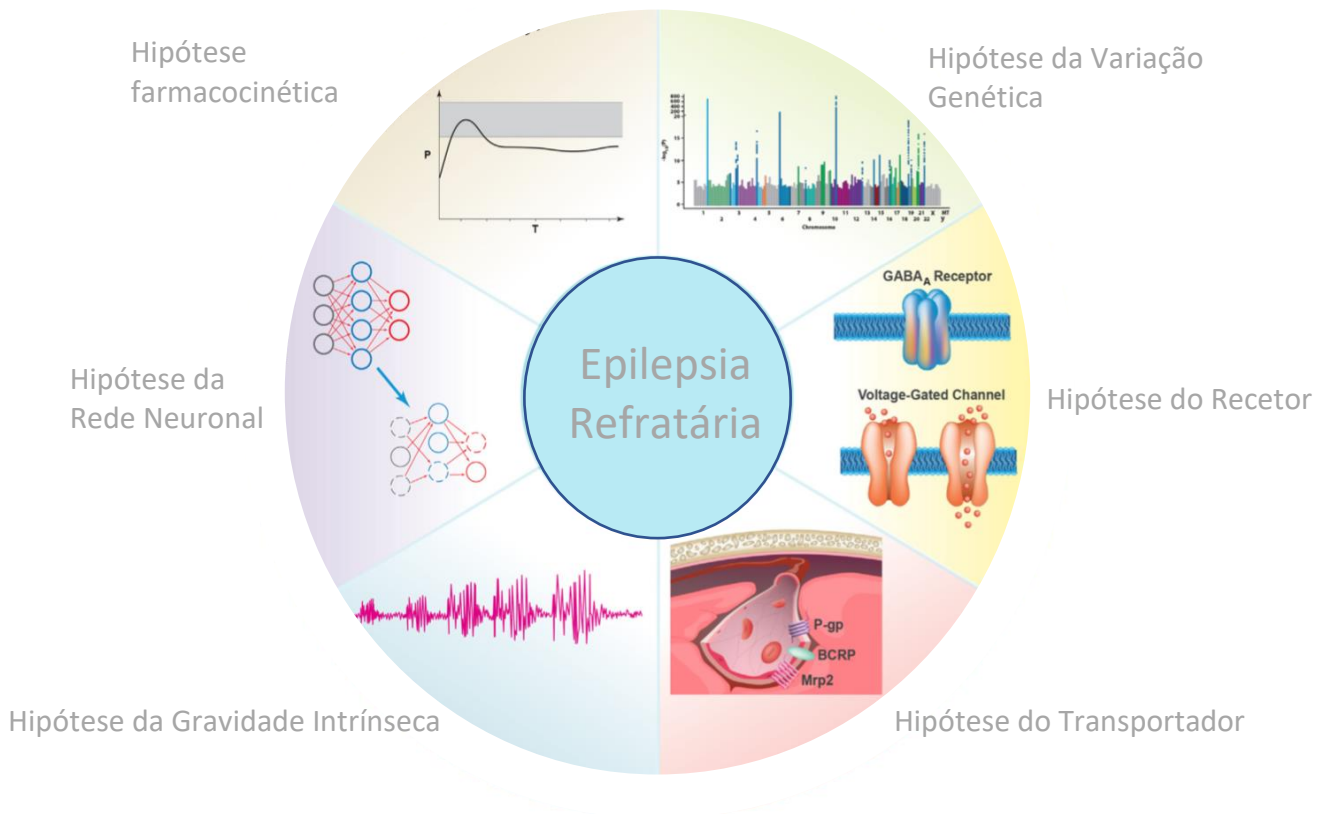


Figura 3.1 - Hipóteses propostas sobre o mecanismo por detrás da epilepsia refratária (Adaptado de [8])

terapêuticas para doentes que sofrem de epilepsia refratária. A hipótese do alvo e a hipótese do transportador são as que reúnem maior consenso no seio da comunidade científica, mas nenhuma das duas explica completamente a base neurobiológica por detrás da resistência[25][26].

É claro que os mecanismos que levam a uma epilepsia refratária são multifatoriais, envolvendo o ambiente em que a pessoa vive, a genética, bem como as comorbilidades existentes e os fármacos referentes a outras patologias[27].

3.1.1. Hipótese Farmacocinética

A hipótese farmacocinética propõem que uma elevada expressão dos transportadores efluxo existentes em órgãos periféricos, como intestino, fígado e rins, leva a uma diminuição da concentração plasmática dos fármacos anticonvulsivos em doentes com epilepsia refratária, levando a que a quantidade de fármaco que atravessa a barreira hematoencefálica (BHE) não seja a suficiente para que este possa apresentar efeito terapêutico[8].

A primeira vez que este tipo de mecanismo de farmacoresistência foi descrito foi em células tumorais onde havia uma elevada expressão do gene MDR-1, gene que origina a Glicoproteína-P (P-gp), que é um transportador de efluxo[28]. Depois da potencial associação entre a elevada expressão destes transportadores e o fenómeno de resistência, muitos estudos vieram a confirmar esta superexpressão em doentes refratários[28]. Contudo, ainda não é claro se este aumento da expressão de transportadores de efluxo já existia antes do início da epilepsia ou se é devido às crises epiléticas, à terapêutica farmacológica implementada ou a ambos[28]. A natureza dos genes destes transportadores mostra que a sua expressão pode ser induzida em células que antes não os apresentavam[28].

O suporte para a hipótese farmacocinética também tem origem em estudos que demonstram baixos níveis citoplasmáticos de fármaco, independentes da superexpressão da P-gp[8]. Num ensaio clínico em que entraram 70 doentes tratados com fenitoína oral, verificou-se que a concentração plasmática de fenitoína livre era relativamente maior em doentes que apresentavam uma resposta completa em comparação com pacientes que apresentavam apenas uma resposta parcial[29]. Este efeito foi independente da dose de fenitoína, sugerindo que os valores de fármaco livre são um bom parâmetro para se controlar o efeito dos fármacos antiepiléticos em doentes que estejam a fazer terapêutica com fenitoína.

Um estudo em modelos animais relaciona a extensão dos efeitos adversos naqueles que possuem uma resposta positiva a antiepiléticos com aqueles que apresentam resistência, concluindo que ambos têm os mesmo efeitos adversos e na mesma extensão, sugerindo que estes dois grupos apresentam as mesmas concentrações plasmáticas[30].

A hipótese farmacocinética para a justificação da existência da epilepsia refrataria por si só não é suficientemente forte e é difícil de validar. Podemos confirmar as variações nas concentrações plasmáticas dos antiepiléticos através das monitorizações sanguíneas dos fármacos, permitindo que se ajuste as doses dos doentes com o objetivo de obter uma concentração plasmática suficiente para que haja efeito terapêutico. Tendo em consideração os ajustes que se possam fazer em relação às variações, estas não são iguais em todos os doentes, levando a que não haja um intervalo terapêutico que se possa aplicar a todos eles[31]. A concentração para que ocorra um efeito terapêutico vai ser dependente do doente e do tipo de epilepsia que este apresenta, mas também da farmacocinética que o fármaco em questão apresenta. Para novos fármacos, as margens terapêuticas que têm sido apresentadas são muito abrangentes, mas também têm sido reportados dados em que as dose não responsivas (doses administradas que não apresentam efeito terapêutico) são muito próximas ou sobrepõem-se às doses que apresentam toxicidade[31].

Assim sendo, com base nesta hipótese, é mais sensato que a dose adequada a cada doente que apresente epilepsia refratária seja adaptada com base nos respetivos níveis plasmáticos que este apresenta.

3.1.2. Hipótese da Rede Neuronal

A hipótese da rede neuronal propõe que as convulsões causam degeneração e remodelações na rede neuronal, contribuindo para que se forme uma rede neuronal anormal, que não só evita que o sistema antiepilético endógeno tenha o efeito pretendido, mas também evita que os fármacos antiepiléticos convencionais consigam atingir os seus alvos, levando ao desenvolvimento de uma epilepsia refratária[32].

Evidências moleculares mostram que o cone de crescimento do axão recebe orientação e moléculas de sinalização normalmente expressas no epitélio cerebral. Além disso, a formação de novos circuitos excitatórios tem sido amplamente investigada na epilepsia do lobo temporal (ELT). Postula-se que a neurogênese e a astrogliose (aumento anormal do número de astrócitos devido à destruição de neurónios próximos devido a um trauma no Sistema Nervoso Central (SNC), infeção, isquémia, acidente vascular cerebral, respostas autoimunes e doença neurodegenerativa[33]) na ELT podem contribuir para o

desenvolvimento de redes neuronais anormais e, eventualmente, para o surgimento de resistência aos fármacos[32].

A principal fraqueza que esta hipótese apresenta é que as alterações na rede neuronal não levam ao surgimento de epilepsia refratária em todos os doentes com epilepsia. Assim sendo, é necessário mais evidências biológicas sobre as possíveis diferenças existentes entre uma epilepsia responsiva e uma epilepsia refratária[32].

3.1.3. Hipótese da Gravidade Intrínseca

A hipótese da gravidade intrínseca postula que fatores neurobiológicos comuns contribuem para a gravidade da epilepsia e a farmacoresistência[25]. Por outras palavras, a farmacoresistência é inerente à gravidade da doença, que pode existir numa classificação contínua que varia desde leve até grave[34].

Dados de relatórios que apoiam esta hipótese sugerem que a alta frequência de crises pré-tratamento é um fator importante que pode prever que a epilepsia se trata de epilepsia refratária[35]. No entanto, um ensaio clínico randomizado demonstrou que o início do tratamento com antiepiléticos após a primeira convulsão tónico-clónica não melhorou o prognóstico existente para a epilepsia. Foi observada a mesma probabilidade de ficar livre de crises por 1-2 anos em doentes que foram tratados após a primeira crise e aqueles que receberam tratamento após a recorrência das crises[36].

A alta frequência de crises antes do tratamento com antiepiléticos poderia ser o resultado de alterações fisiopatológicas que caracterizam a epilepsia refratária[37]. Uma interpretação alternativa dos dados relativos à alta frequência de crises resultou na hipótese da gravidade intrínseca. Embora esta hipótese pareça ser biologicamente plausível, esta não se aplica adequadamente a tipos de epilepsia que demonstram um padrão flutuante ou em evolução da resistência a antiepiléticos[25]. Além disso existem poucas evidências que sustentem a ligação entre a gravidade da epilepsia e a resistência aos fármacos. Assim sendo, tem sido sugerido que a hipótese da gravidade intrínseca por si só não é explicativa da farmacoresistência que ocorre na epilepsia[38].

3.1.4. Hipótese da Variação Genética

A hipótese da variação genética afirma que as variações nos genes que estão relacionados com a farmacocinética e farmacodinâmica dos fármacos antiepiléticos poderão contribuir para a farmacoresistência aos fármacos em questão[39][8].

Especificamente, variações nos genes que codificam as enzimas que metabolizam os antiepiléticos, que codificam canais iónicos e recetores dos neurotransmissores em que os fármacos atuam podem afetar a resposta a estes[40].

A fenitoína é principalmente metabolizada pelo CYP2C9, cerca de 90%, e pelo CYP2C19[41]. Estudos relataram uma forte associação entre os alelos variantes com menor atividade do CYP2C9 (CYP2C9*2 e CYP2C9*3) e a necessidade de uma menor dose[42], como podemos observar na tabela 2.

Tabela 3.1 - Efeitos funcionais dos alelos *2 e *3 do CYP2C9 [41]

Alelo CYP2C9	Expressão <i>in vitro</i>	Farmacocinética	Mecanismo
*2	29% de redução na <i>clearance</i> da fenitoína comparando com *1	Portadores do alelo *2 tem um aumento da concentração sérica de fenitoína depois da toma de uma dose única em voluntários saudáveis.	O alelo *2 não está localizado no local de reconhecimento do substrato, o mecanismo que leva à redução da metabolização não é claro.
*3	93-95% de redução na <i>clearance</i> comparando com *1	Portadores do alelo *3 têm taxas de eliminação significativamente mais baixas que os doentes *1/*1, o que leva a um aumento das concentrações séricas de fenitoína após a toma de uma dose em voluntários saudáveis.	A mutação do alelo *3 é localizada no local 5 de reconhecimento do substrato, levando a reduções na capacidade de ligação e de depuração intrínseca.

Os canais de sódio dependentes de voltagem são alvo de diversos antiepiléticos que são comumente utilizados, tais como a carbamazepina, a fenitoína, a lamotrigina e o valproato[43]. Estes canais de sódio são constituídos por uma subunidade α e duas subunidades β . As isoformas da subunidade α , Nav1.1, 1.2, 1.3 e 1.8, são codificadas pelos genes SCN1A, 2A, 3A e 8A, respetivamente[44]. Usando a técnica de marcação de halotipos foi demonstrado uma correlação significativa entre um polimorfismo de um único nucleótido (SNP) num intrão no gene SCN1A (IVS5-91G > A ou rs3812718) e as doses máximas necessárias de carbamazepina e fenitoína em grupos de 425 e 281 doentes ingleses, respetivamente[41].

Num estudo de acompanhamento em que participaram 168 doentes de nacionalidade chinesa com epilepsia e a fazer terapêutica farmacológica com fenitoína, descobriu-se que o mesmo polimorfismo está correlacionado com os níveis séricos de

fenitoína na dose de manutenção, mas não com a dose de carga ou máxima de fenitoína[45].

Noutro estudo em que participaram 228 doentes japoneses com epilepsia, demonstrou-se a existência de uma associação significativa entre a frequência do genótipo SCN1A IVS5-91AA e a resistência à carbamazepina, mas não a dose máxima ou de manutenção da mesma.

A marcação de genótipos e de SNP's candidatos no gene SCN1A, 2A e 3A em 471 doentes chineses que possuíam epilepsia, demonstrou uma correlação entre um SNP no SCN2A (IVS7-32 A>G, rs2304016) e a capacidade de resposta a vários fármacos antiepiléticos[44].

Atualmente a evidência mais forte de que a hipótese da variação genética é verdadeira é a associação entre o polimorfismo do CYP2C9 e a dose de fenitoína necessária. Embora a relação entre os polimorfismos SNC1A e SCN2A e a dose necessária de antiepiléticos e/ou resposta a estes tenha sido investigada em vários estudos de associação genética, os resultados destes foram inconsistentes e as associações genéticas que foram até agora identificadas precisam de ser confirmadas em populações maiores. Além disso, tendo em conta a baixa frequência de certos alelos e a natureza multifatorial da epilepsia refratária, é possível que marcadores individuais não tenham um impacto clínico tão significativo na resposta ao antiepiléticos[44].

O impacto da hipótese da variação genética como uma teoria única é principalmente limitada pela inconsistência dos resultados e pela fraca reprodutibilidade dos resultados dos estudos. No entanto, considerando o melhoramento da farmacogenómica e das metodologias de pesquisa, é espectável que haja um aumento das chances de descobrir os verdadeiros marcadores genéticos por de trás da resistência a antiepiléticos[46].

3.1.4. Hipótese do Alvo

A hipótese do alvo para a causa da epilepsia refratária postula que alterações nos alvos dos fármacos antiepiléticos, como alterações nos canais iónicos dependentes de voltagem e nos recetores dos neurotransmissores, resulta numa diminuição da sensibilidade aos fármacos, levando a que surja resistência[43][8]. Por exemplo, a perda do bloqueio dependente do uso dos canais de sódio sensíveis à voltagem em células granulares dentadas pela carbamazepina foi observada em ratos com epilepsia induzida por pilocarpina e no hipocampo de doentes com epilepsia do lobo temporal resistente à

carbamazepina[47]. No entanto, esta perda de eficácia derivado de uma potencial alteração no alvo molecular foi apenas reportada para a carbamazepina e ainda não foi demonstrado que também ocorra para outros antiepiléticos que atuam pelo bloqueio dos canais de sódio[48]. Foi igualmente relatado uma diminuição da sensibilidade dos recetores GABA_A no centro de ligação 1 das benzodiazepinas em modelos de epilepsia da pilocarpina[43].

No geral, as evidências que apoiam esta hipótese descrevem principalmente a perda do bloqueio dos canais uso-dependente pela carbamazepina[48]. O facto de a maior parte dos doentes refratários apresentar resistência a vários antiepiléticos que atuam em diferentes alvos terapêuticos diminui a utilidade geral desta hipótese e ainda sustenta a teoria da existência de um mecanismo não-específico para cada antiepilético[49].

3.1.5. Hipótese do Transportador

A resistência a múltiplos fármacos devido a transportadores de efluxo tem sido intensivamente estudada em células tumorais. Os transportadores mais bem conhecidos são os que pertencem à superfamília ABC (*ATP-binding cassette*) e respetivas subfamílias B, C, e G, especificamente a P-gp (ABCB1 ou MDR1), as proteínas associadas à resistência a múltiplos fármacos (MRP1, ABCC1, MRP2, ABCC2), e a proteína de resistência ao cancro da mama (BCRP, ABCG2)[50]. Os membros da superfamília ABC consistem em bombas transmembranares dependentes de ATP que transportam os substratos ativamente contra o gradiente de concentração ao nível das células e dos tecidos, limitando a sua entrada nos órgãos (cérebro) ou condicionando a absorção (intestino), causando deste modo resistência[50]. A superexpressão de transportadores ABC nos cancros, como são exemplo a P-gp e a BCRP, é responsável pelo aumento do efluxo dos seus substratos para fora das células cancerígenas[27] o que leva ao desenvolvimento de mecanismos de resistência aos fármacos utilizados na quimioterapia, fazendo com que o prognóstico para estes doentes não seja o mais favorável.

Em 1995 Tishler *et al.* [51] descobriu que o mRNA do transportador MDR1 apresentava uma elevada expressão no tecido cerebral de doentes resistentes à terapêutica e postulou a hipótese do transportador para justificar a base etiológica da epilepsia refratária: a superexpressão da P-gp na barreira hematoencefálica em alguns doentes com epilepsia contribuiu para a diminuição da captação cerebral dos antiepiléticos, o que causa uma resistência aos fármacos semelhante àquela que se verifica no cancro[49]. Após a

proposta inicial de Tishler e os seus colaboradores, descobriram-se outros transportadores ABC que apresentavam de modo similar uma maior expressão na barreira hematoencefálica de doentes epiléticos, e conseqüentemente, esta teoria começou a ser investigada mais aprofundadamente[52].

A hipótese do transportador é baseada em duas suposições:

- A superexpressão dos transportadores de efluxo está correlacionada com a farmacorresistência na epilepsia;
- Os fármacos antiepiléticos estão sujeitos a transporte ativo pelos transportadores de efluxo[53].

Na hipótese do transportador, a P-gp, as MRP's e as BCRP apresentam papéis diferentes que passo a descrever.

3.1.5.1. Glicoproteína-P

A P-gp também é conhecida como MDR1 (nomenclatura antiga) ou como membro da subfamília B1 dos transportadores *ATP-binding cassette* (ABCB1, nova nomenclatura). No ser humano, o gene MDR1 (ABCB1) é o responsável pela codificação da P-gp[54]. A P-gp encontra-se maioritariamente expressa em várias barreiras fisiológicas e em órgãos de excreção, tais como o fígado e rins, onde transporta ativamente para fora das células moléculas hidrofóbicas e anfipáticas[55][56]. Esta função fisiológica de transporte de toxinas e de xenobióticos ocorre naturalmente e é considerado ser um mecanismo de defesa crítico[57]. No cérebro humano, sobre condições normais, esta proteína encontra-se expressa na membrana plasmática luminal do epitélio dos capilares cerebrais que constituem a membrana hematoencefálica, bem como na membrana apical (face que está em contacto com o líquido cefalorraquidiano). A expressão de P-gp é marginalmente detetável em neurónios e células de glia em condições fisiológicas normais[55].

3.1.5.2. Proteínas Associadas à Resistência a Múltiplos Fármacos

A família MRP (*ATP-binding cassette* subfamília C, ABCC) é composta por 9 membros (MRPs 1-9 ou ABCCs 1-6 e 10-12)[58]. As MRPs são expressas em várias membranas de diferentes tipos de células, como hepatócitos, células epiteliais do túbulo proximal do rim, enterócitos, e em células endoteliais do cérebro, exercendo uma função

de transporte de uma grande variedade de compostos e os seus metabolitos, sendo a maioria compostos aniônicos endógenos e exógenos[58].

A localização luminal e/ou basal das MRPs, normalmente, é específica para um certo tipo de células[59]. A MRP1 é expressada na membrana basal das células epiteliais do plexo coróide e em baixos níveis na membrana luminal das células da membrana hematoencefálica[59]. A MRP2 é exclusivamente expressa na membrana luminal das membranas polarizadas, incluindo as células endoteliais do cérebro[58]. A MRP4 e MRP5 também foram encontradas nas células endoteliais dos capilares cerebrais[59], enquanto a expressão a nível neuronal e glial de MRP1 e MRP2 num cérebro normal não tem sido descrita com consistência na literatura[60].

3.1.5.3. Proteína de Resistência ao Cancro da Mama

A proteína de resistência ao cancro da mama (ATP-binding cassette subfamília G, membro número 2 ou ABCG2) é maioritariamente expressa na membrana apical de vários tipos de células, incluindo hepatócitos, células epiteliais do intestino, células do túbulo proximal dos rins, e nas células do endotélio da barreira hematoencefálica[61]. À semelhança da P-gp, a BCRP é um transportador para um amplo grupo de substratos e a sua distribuição através dos diferentes tecidos contribui para o papel importante que esta proteína exerce na restrição da absorção e eliminação de fármacos e xenobióticos[62].

3.1.5.4. Superexpressão de Transportadores de Efluxo na Epilepsia Refratária

A superexpressão da P-gp em tecido cerebral de doentes que apresentam uma epilepsia refratária tem sido documentada em vários estudos[52]. Tishler *et al.* foram os primeiros a demonstrar a superexpressão do mRNA do MRD1 em 11 dos 19 tecidos cerebrais de doentes com epilepsia refratária[51]. Posteriormente, níveis elevados de expressão de P-gp também foram observados na membrana luminal do endotélio dos capilares cerebrais, utilizando a técnica de imunohistoquímica[55][63]. A superexpressão da P-gp foi adicionalmente detetada em astrócitos e/ou neurónios displásicos em causas patológicas comuns de epilepsia refratária, incluindo tumores disembrionários neuroepiteliais (DNT), esclerose do hipocampo e displasia cortical focal (FCD)[27][60][64].

A superexpressão do MRP1 em astrócitos e/ou em neurónios displásicos no HS, DNT, e FCD também tem sido descrito em vários estudos. Os resultados destes estudos

confirmam que a expressão da proteína MRP1 no tecido cerebral de indivíduos com epilepsia se encontra aumentada, em comparação com o tecido cerebral de indivíduos saudáveis, enquanto a expressão endotelial da MRP1 não evidencia diferença entre os dois[65].

Dombrowski *et al.* foram os primeiros a relatar os níveis elevados de mRNA de MRP2 e MRP5 em células endoteliais isoladas a partir de tecido cerebral epilético de doentes que apresentavam epilepsia refratária em comparação com um controlo de células endoteliais das veias umbilicais e domus de aneurisma[55]. Aronica *et al.* reportaram a superexpressão da proteína MRP2 em células endoteliais e astrócitos em tecido HS de indivíduos adultos que sofriam de ELT[60].

Dados de alguns estudos comparativos da expressão do BCRP no controlo e em tecido epilético do cérebro humano demonstraram a expressão constitutiva de BCRP no endotélio dos capilares cerebrais, apesar destes dados não mostrarem diferenças na expressão da BCRP entre os dois grupos[61][63]. Devido à atual falta de evidências na superexpressão de BCRP em tecido cerebral de indivíduos com epilepsia, é pouco provável que a BCRP desempenhe um papel fundamental na hipótese do transportador para que ocorra a resistência a antiepiléticos.

Embora tenha sido demonstrado um aumento do mRNA e um aumento da expressão da P-gp e MRPs em tecido cerebral de doentes com epilepsia resistente a antiepiléticos, estudos anteriores não apresentavam grupos de controlo adequados, pois é difícil obter tecido cerebral de doentes que tenham uma epilepsia responsiva e de indivíduos que não apresentem doenças cerebrais. Assim sendo, ainda não é claro se a superexpressão de transportadores de efluxo se correlaciona com a epilepsia refratária, se potencialmente causa o surgimento da mesma ou se é um epifenómeno da epilepsia em humanos que não está relacionado com a resistência a antiepiléticos[66].

A esse respeito, Volk e Loscher estabeleceram uma correlação entre a resposta a antiepiléticos e os níveis de expressão de P-gp num modelo ELT em ratos com crises recorrentes desenvolvidas após o estado de mal epilético (*status epilepticus* (SE)) induzido eletricamente[67]. Usando este modelo, os autores demonstraram que ratos epiléticos que não apresentavam resposta ao fenobarbital tinham níveis de expressão da P-gp mais elevados em células do endotélio cerebral em comparação com os ratos que apresentavam resposta ao fármaco[67]. Em humanos, a tomografia de emissão de positrões não invasiva (PET) é uma abordagem para comparar diretamente a atividade funcional da P-gp em doentes responsivos vs. doentes não responsivos através da

determinação da concentração de *tracers* que são substratos da P-gp[68]. Num pequeno estudo piloto de PET usando o substrato (R)-[¹¹C] verapamil, Langer *et al.* reportou não haver diferenças significativas nos parâmetros farmacocinéticos entre as zonas epiletogénicas e não epiletogénicas do cérebro em doentes com epilepsia refratária[69]. Posteriormente, Feldmann e seus colaboradores conduziram um pequeno estudo PET em 14 doentes com epilepsia refratária, 8 pacientes com epilepsia controlada, e 13 indivíduos saudáveis como controlo[70]. Nos doentes com epilepsia refratária, a absorção cerebral do (R)-[¹¹C] verapamil foi reduzida em comparação com os doentes que apresentavam controlo das crises[70]. Após a administração de tariquidar, um inibidor da P-gp, observou-se um aumento da absorção, mas mesmo neste caso esta foi menor do que nos indivíduos saudáveis[70]. Ambas as observações confirmam que existe uma maior atividade da P-gp na barreira hematoencefálica em doentes que apresentam uma epilepsia refratária[70]. Este estudo foi o primeiro a providenciar evidências *in vivo* da superatividade da P-gp em doentes com epilepsia refratária. Num estudo mais recente com 6 doentes com epilepsia refratária, 5 doentes com epilepsia responsiva e 8 indivíduos saudáveis, foi utilizado o (R)-[¹¹C] verapamil PET e a ressonância magnética com ciclosporina A (inibidor da P-gp). Os dados obtidos demonstraram uma assimetria significativa na expressão da P-gp em doentes refratários em comparação com os outros grupos do estudo, sugerindo que há uma maior expressão da P-gp e menor absorção dos substratos desta em doentes com epilepsia refratária[71]. São necessários mais estudos utilizando o PET para comparação entre doentes com epilepsia refratária e doentes com epilepsia responsiva para que se possa confirmar os resultados apresentados acima.

Em suma, a superexpressão de transportadores de efluxo ABC de múltiplos fármacos que se observa na barreira hematoencefálica em diversos estudos formam a base para a hipótese do transportador como causa da epilepsia refratária. Além disso, a expressão destes transportadores em astrócitos também foi descrita, o que pode apresentar outra barreira para que haja uma captação cerebral reduzida de antiepilépticos[50][60].

3.1.5.5. Transporte de Antiepilépticos por Transportadores Efluxo

A falta de evidências de que os antiepilépticos são transportados por transportadores de efluxos em concentrações terapêuticas é considerado o elo fraco na hipótese do transportador[71]. Estudos mais recentes sugerem que alguns antiepilépticos podem ser substratos da P-gp e/ou da MRPs. Contudo, os resultados obtidos por diversos

ensaios utilizando modelos diferentes, metodologias diferentes e métodos analíticos com sensibilidades diferentes exibiram grande variabilidade, relevando-se inconsistentes. Os investigadores que tentaram identificar quais os fármacos antiepiléticos substratos da P-gp, MRPs e/ou da BCRP usaram principalmente três abordagens: linhas celulares com superexpressão de transportadores; inibição dos transportadores em linhas celulares e/ou animais íntegros; e animais geneticamente modificados (*knockout*)[57]. Cada uma das diferentes abordagens tem as suas forças e fraquezas, por exemplo, o uso de linhas celulares com superexpressão de transportadores permite uma análise *in vitro*. Os inibidores dos transportadores possuem falta de especificidade e podem interagir com mais do que um transportador, e a utilização de animais *knockout* pode demonstrar potencial para uma regulação positiva de outros transportadores, o que pode complicar a situação[53]. Portanto, as três abordagens necessitam de ser utilizadas em simultâneo, e não em separado, para que se possa obter dados conclusivos[53]. Além disso, comparativamente aos fármacos quimioterapêuticos que usualmente aparentam ser substratos de alta afinidade da P-gp e MRPs, os antiepiléticos são substratos com fraca afinidade para os transportadores de efluxo, o que lhes confere a capacidade de atravessar a BHE mais facilmente em condições fisiológicas[72].

3.1.5.6. Mecanismo de regulação positiva do transportador de efluxo

Uma questão importante que provém da hipótese do transportador é se a superexpressão dos transportadores de efluxo na BHE que se verifica na epilepsia é adquirida ou constitutiva. As evidências atuais sugerem que as convulsões, os fatores genéticos ou uma combinação de ambos são, provavelmente, os principais contribuintes para a superexpressão dos transportados de efluxo que se verifica na BHE em doentes epiléticos[38].

Dados experimentais, principalmente de estudos conduzidos em animais, sustentam que a regulação positiva da P-gp nas regiões epiléticas do cérebro ocorre como resultado das convulsões[73]. Rizzi *et al.* relataram a regulação positiva de mRNA de *mdr1* no cérebro de ratos após crises induzidas por ácido caínico e em animais com crises auto sustentadas após SE induzida eletricamente[74]. Usando um modelo de ELT em ratos no qual as crises se desenvolveram espontaneamente após SE eletricamente induzida, van Vliet *et al.* demonstraram que os níveis de mRNA de *mdr1a*, mRNA *mdr1b* e P-gp aumentaram uma semana após indução de SE[75]. Especialmente, ratos com epilepsia crónica apresentam uma persistente superexpressão de mRNA *mdr1b* e P-gp em

células endoteliais e da glia no lobo temporal ventral, com níveis de P-gp mais elevados em ratos com maior atividade convulsiva[75].

Os níveis de mRNA de *mdr1a* e de P-gp também aumentaram em amostras de tecido total do hipocampo temporal e do córtex para-hipocampo que se encontram envolvidos na epileptogênese[30]. Noutro estudo, Bankstahl e Loscher mostraram a superexpressão da P-gp nas células endoteliais dos capilares cerebrais 48h após o SE em dois modelos animais (ratos), concretamente, o modelo de lítio/pilocarpina e o modelo de estimulação elétrica basolateral da amígdala[76]. van Vliet *et al.* também reportaram aumentos nos níveis de expressão das proteínas MRP1, MRP2 e BCRP em astrócitos de ratos e vasos sanguíneos cerebrais após SE agudo e epilepsia crónica[77]. À semelhança do que foi descrito relativamente à P-gp, a superexpressão destes transportadores evidenciou-se maior em ratos com epilepsia crónica que demonstravam progressão da epilepsia[77]. Pesquisas recentes demonstraram a existência de dois mecanismos principais que levam a superexpressão de transportadores de efluxo no cérebro com epilepsia: indução mediada de transportadores de efluxo por ação dos antiepiléticos e superexpressão de transportadores de efluxo induzida por convulsões.

Em relação ao primeiro mecanismo, os estudos realizados sobre a relação entre o uso de antiepiléticos conduzirem e a uma superexpressão dos transportadores de efluxo não obtiveram resultados consistentes. Rizzi *et al.* relataram que a administração intraperitoneal de 30mg/kg de fenitoína ou 15mg/kg de carbamazepina duas vezes por dia durante 7 dias não alterou a expressão de mRNA de *mdr1* no hipocampo de ratos[74]. No entanto, os níveis de expressão da P-gp são mais elevados nos capilares cerebrais e, portanto, esse aumento seria potencialmente mascarado pela utilização de amostras de cerebrais totais como resultado do efeito de diluição (os capilares cerebrais correspondem apenas a 1% do volume cerebral)[78]. Seegers *et al.* descobriram que a administração de 75mg/kg de fenobarbital e fenitoína no primeiro dia seguida de uma dose de 30mg/kg e 50 mg/kg durante 11 dias, respetivamente, a ratos por via intraperitoneal não aumentou significativamente os níveis de expressão da P-gp endotelial ou parenquimatosa em diversas regiões do cérebro[79].

Em contraste, no modelo de SE induzido por uma lactona de Coriaria, Wang-Tilz *et al.* relataram que a administração oral de 125mg/kg de carbamazepina ou 187,5mg/kg de ácido valpróico diariamente levou ao aumento da expressão da P-gp em astrócitos e células endoteliais ao nível do hipocampo, nos lobos temporais, frontal e parietal do cérebro, ao passo que a administração diária *per os* de 100mg/kg de topiramato ou

125mg/kg de lamotrigina durante 30 dias não afetou os níveis de expressão da P-gp[80]. No entanto, estudos demonstraram que as convulsões induzem a expressão da P-gp a nível capilar no cérebro[81]. De facto, se os níveis de P-gp já foram induzidos ao máximo no estudo conduzido por Wang-Tilz, não se esperaria observar aumentos adicionais aos níveis de expressão de P-gp induzidos por antiépiléticos.

O segundo mecanismo que demonstrou desencadear um aumento dos níveis de expressão de transportadores de efluxo é a ocorrência de convulsões recorrentes. Nesse sentido, Lazarowski *et al.* mostraram que a administração diária de ácido 3-mercaptopropiónico (MP) causa convulsões diárias, o que resulta num aumento progressivo da expressão da P-gp ao nível da BHE[82]. Os investigadores mostraram que a farmacocinética da fenitoína se encontrava alterada ao nível do hipocampo de ratos epilépticos em que a epilepsia foi induzida pelo MP e que o tratamento com o inibidor da P-gp nimodipina restaurou a farmacocinética normal da fenitoína no hipocampo, resultando no controlo das crises[83]. Mais recentemente, o modelo da convulsão induzida por MP em ratos foi apresentado como um novo modelo de resistência a fármacos, que permite o rastreamento de fármacos nos estágios iniciais dos ensaios pré-clínicos[84]. Após 23 administrações consecutivas de MP, 100% dos animais tornaram-se resistentes à fenitoína e 80% dos animais criaram resistência ao fenobarbital[84]. A farmacoresistência detetada foi fortemente associada à superexpressão da P-gp no córtex cerebral, hipocampo e estriado. É importante ressaltar que não se verificou resistência a fármacos que não eram substratos da P-gp, como a carbamazepina, diazepam e levetiracetam[84]. Portanto, este novo modelo pode ser útil para o rastreio de novos antiépiléticos que são substratos da P-gp e têm o potencial de controlar as crises em epilepsias farmacoresistentes.

3.1.5.7. Polimorfismos nos transportadores de efluxo e a resposta a antiépiléticos

Hoffmeyer *et al.* foram os primeiros a identificar o SNP C3435T no exão 26 do gene humano ABCB1 (MDR1)[85]. Neste estudo em particular, indivíduos com o genótipo TT apresentaram níveis estatisticamente baixos de expressão e de atividade da P-gp a nível intestinal, demonstrado pelo aumento de absorção intestinal da digoxina que é um substrato da P-gp[85]. Mais tarde, foram identificados mais polimorfismos no gene ABCB1, incluindo o SNP G2677T/A no exão 21 e o SNP C1236T no exão 12, os quais se acreditam estar em desequilíbrio de ligação com o C3435T[86] e são responsáveis pela maioria dos haplótipos do ABCB1 juntamente com o SNP C3435T[53]. Desde a primeira

descrição da associação entre o SNP C3435T e os níveis de expressão e de atividade da P-gp, numerosos estudos foram realizados com o intuito de replicar os resultados ou identificar outros polimorfismos relevantes[87]. No entanto, estudos de acompanhamento forneceram dados conflituosos. Por exemplo, Siegmund *et al.* relataram que em indivíduos caucasianos saudáveis, nenhum dos genótipos estudados, incluindo C3435T, G2677T/A e outros SNPs potencialmente funcionais, afetaram significativamente os níveis de expressão da P-gp ou a atividade *in vivo* da mesma[88].

Da mesma forma, a investigação da associação entre os polimorfismos no ABCB1 e a resposta à terapêutica com antiepiléticos obtiveram resultados inconsistentes. Siddiqui *et al.* foram os primeiros a investigar a relação entre os polimorfismos do ABCB1 e a resistência a antiepiléticos[89]. Num estudo com 315 doentes com epilepsia, foi relatado que os doentes com epilepsia refratária apresentavam com maior frequência o genótipo CC (possuir o nucleótido C nas duas cópias do DNA) no SNP C3435T do que o genótipo TT (possuir o nucleótido T em ambas as cópias do DNA)[89]. No entanto, Tan *et al.* não conseguiu confirmar a associação entre o SNP C3435T e a resposta a antiepiléticos na epilepsia[90]. Sills *et al.* estudaram a associação entre o SNP C3435T e a farmacoresistência em 400 doentes e não encontraram diferenças significativas na frequência alélica ou de genótipo entre os doentes responsivos e não responsivos à terapêutica com antiepiléticos[91]. Outro estudo investigou a associação entre o polimorfismo C3435T e a farmacoresistência em 171 doentes coreanos com epilepsia e obtiveram um resultado negativo em relação à associação[92].

Usando uma abordagem *gene-wide*, Kwan *et al.* genotiparam 12 marcadores e candidatos a SNPs do ABCB1 em 464 doentes epiléticos com origem chinesa e revelaram significativas associações entre a farmacoresistência e o polimorfismo introónico rs3789243, o polimorfismo codificador G2677T/A, e haplotipos contendo dois polimorfismos[86]. Em comparação, Leschziner *et al.* num estudo caso-controlo com 149 caucasianos epiléticos, não encontraram uma associação significativa entre a farmacoresistência e os polimorfismos C3435T, G2677T/A, C1236T ou um conjunto de SNPs que descrevem variações comuns no ABCB1[93].

Tais discrepâncias nos resultados dos estudos podem indicar a inexistência de uma real associação entre o polimorfismo C3435T do ABCB1 e a farmacoresistência na epilepsia. Uma explicação alternativa pode ser que a associação tenha sido mascarada por fatores de confusão, tais como a heterogeneidade nos entre os vários antiepiléticos que

foram utilizados nos estudos, porque nem todos os fármacos são substratos da P-gp ou são transportados na mesma extensão[94].

Em suma:

Sisodiya propôs que o mecanismo que causa a epilepsia refratária está necessariamente envolvido na resistência a antiepiléticos com a funcionalidade apropriada, localizando-se na zona epileptogénica do cérebro, e que combater esse mesmo mecanismo deverá diminuir a farmacorresistência[95]. No modelo roedor, foi observada uma superexpressão da P-gp no tecido cerebral epilético, estando relacionada com as baixas concentrações de antiepiléticos no cérebro. De facto, os ratos farmacorresistentes apresentam uma maior expressão de P-gp no cérebro comparativamente aos ratos que apresentam uma resposta positiva aos fármacos antiepiléticos, e a inibição da P-gp com um inibidor específico, como o tariquidar, permite a neutralização desta farmacorresistência[38]. No entanto, não é claro que estas evidências descritas em estudos com roedores possam ser extrapoladas diretamente para humanos com epilepsia refratária[38]. Também não se encontra claro se a regulação positiva da P-gp na BHE induzida pelas convulsões, tem efeitos clínicos relevantes na captação cerebral dos antiepiléticos e, posteriormente, na eficácia destes fármacos no tratamento da epilepsia, ou se a regulação positiva não é mais do que um epifenómeno das crises não controladas[52].

Evidências *in vitro* mostram que a maioria dos antiepiléticos apresentam uma fraca afinidade como substrato para a P-gp[96], mas também foi argumentado que a superexpressão de transportados de múltiplos fármacos pode restringir o acesso dos antiepiléticos a neurónios epiléticos *in vivo*[52]. Por outro lado, como revelado por várias metanálises, a hipótese do transportador não é suportada por estudos de associação genética[96]. Evidências clínicas que apoiam o transporte de antiepiléticos mediado por transportadores de efluxo no cérebro humano ainda não foram demonstradas[97]. Porém, estudos recentes utilizando técnicas de imagiologia PET/RM, demonstraram pela primeira vez um aumento na atividade do transportador P-gp em doentes com epilepsia farmacorresistente, ocorrendo uma redução da superatividade deste transportador após a cirurgia[98]. Juntos, esses dados dos doentes sugerem que o resultado final após a cirurgia está associado à diminuição da superatividade da P-gp e que a superexpressão pode servir como marcador para a epilepsia farmacorresistente[99].

Atualmente, aspectos relativos à hipótese do transportador ainda são controversos, sendo necessários mais estudos para determinar a relevância clínica da superexpressão de transportadores de efluxo na BHE.

4. Perspetivas Futuras

4.1. Estado atual e desenvolvimento futuro das *guidelines* terapêuticas

As *guidelines* da *American Academy of Neurology* e da *American Epilepsy Society* sobre o tratamento da epilepsia refratária foram atualizadas pela última vez em 2004. Essas *guidelines* concluem que todos os novos fármacos antiepiléticos que foram avaliados (gabapentina, lamotrigina, topiramato, oxcarbazepina, levetiracetam e zonisamida) são adequados para a terapêutica adjuvante no tratamento da epilepsia refratária em adultos[100]. No entanto, essas recomendações foram feitas na ausência de ensaios clínicos frente a frente, projetados racionalmente para avaliar a eficácia de dois ou mais antiepiléticos em doses comparáveis[100]. Em 2003 e 2013 foram publicados mais dois conjuntos de *guidelines* pela *American Academy of Neurology*. De acordo com as referidas orientações, a resseção do lobo temporal anteromesial em doentes com crises focais complexas incapacitantes apresenta mais benefícios que a continuação da farmacoterapia e que a estimulação do nervo vago é possivelmente útil para o tratamento de crianças com epilepsia e doentes com síndrome de Lennox-Gastaut[101][102]. Estas *guidelines* reconhecem as limitações das opções atuais de tratamento e a escassez de evidências de qualidade para o tratamento da epilepsia refratária. No entanto, além de incorporar evidências clínicas recentes, as futuras *guidelines* precisam de ter em consideração a individualização que a terapêutica necessita nos doentes com epilepsia refratária. Nesse sentido, fatores específicos de cada doente tais como a etiologia da doença, o historial clínico, a resposta a fármacos, bem como a natureza multifatorial da farmacoresistência têm de ser levados em consideração para que possamos melhorar a terapêutica aplicada a doentes com epilepsia refratária.

4.2. Futuro desenvolvimento das hipóteses atuais

Cada umas das hipóteses atuais possui as suas limitações e, embora cada hipótese seja aplicada a um subgrupo de doentes com epilepsia refratária, em alguns casos, estas podem se sobrepor, sendo possível a existência de duas teorias em simultâneo[38]. Especificamente, foi proposto que a hipótese do alvo e a hipótese do transportador não são mutuamente exclusivas e que um mecanismo pode ser predominante para alguns antiepiléticos, mas não para outros[38]. Por exemplo, Remy e Beck propuseram que o

mecanismo do alvo desempenha um papel importante na resistência à carbamazepina, pois existem evidências conflituosas sobre o seu estatuto de substrato da P-gp[43].

Embora a maioria da literatura se concentre sobre a hipótese do transportador, ainda são necessárias mais evidências sobre a relevância clínica da superexpressão de transportadores de efluxo na epilepsia refratária. Estudos PET utilizando ligandos da P-gp podem ser utilizados para investigar de que forma a expressão e a atividade da P-gp são alteradas na epilepsia, apresentando potencial para serem utilizados no futuro na identificação de doentes que possam beneficiar duma terapêutica com inibidores da P-gp[39]. Até que mais dados sejam disponibilizados, é justo dizer que a superexpressão de transportadores, provavelmente, não será o único fator que leva à resistência a antiepiléticos e que as melhores evidências disponíveis apenas apoiam a plausibilidade do papel clínico dos transportadores de efluxo na epilepsia refratária.

4.3. Estratégias de tratamento

Com base na hipótese do transportador, uma estratégia para combater a farmacoresistência na epilepsia é o uso de inibidores da P-gp como terapêutica adjuvante[38]. No entanto, o uso de inibidores da P-gp não é desprovido de preocupações, pois a inibição destes transportadores pode aumentar as concentrações plasmáticas de toxinas ou de fármacos, podendo levar a que se alcance concentrações tóxicas[103][30]. O uso de um inibidor inespecífico da P-gp, como o verapamil, pode ser limitado pelo seu efeito na frequência cardíaca e pressão arterial[104]. Embora um pequeno estudo tenha demonstrado que o verapamil em baixas dosagens foi bem tolerado[105], esta evidência precisa de ser confirmada em estudos duplamente cegos em populações maiores. Outra abordagem proposta é a modulação da regulação do transportador na epilepsia, de forma a que se afete a expressão e a função do transportador basal[106][107]. Outras estratégias incluem o desenvolvimento de novos antiepiléticos que não sejam substratos de transportadores de efluxo[74] e de uma metodologia de transposição através de um mecanismo de entrega direcionada[72]. A administração intranasal de antiepiléticos foi igualmente proposta, mas esta necessita de mais evidências de farmacocinéticas relativas à captação cerebral. A administração intracerebral é outra opção, mas a natureza invasiva desta técnica limita a sua aplicação[73].

Uma abordagem importante para a melhoria do prognóstico da epilepsia é desenvolver fármacos antiepiléticos com maior eficácia, direcionando-os para novos

alvos farmacológicos, distintos dos atuais[108][109]. Conseqüentemente, é necessário melhorar a compreensão que temos sobre os mecanismos neurobiológicos subjacentes à resistência a antiepiléticos em doentes e identificar e testar novos tratamentos usando diferentes modelos, incluindo modelos animais de epilepsia refratária[108][39]. Além disso, devem ser direcionados esforços na busca de fármacos capazes de interferir na progressão da epilepsia ou dificultar a neurodegeneração[39].

Várias estratégias não-farmacológicas estão atualmente em desenvolvimento. As terapias baseadas em células estaminais e a terapêutica genética são estratégias promissoras, mas ainda não foram testadas em ensaios clínicos para uso na epilepsia[110][111]. Os potenciais mecanismos da terapêutica genética incluem a inibição da hiperexcitabilidade neuronal, a promoção da sobrevivência neuronal e a facilitação da reparação do circuito neuronal por transdução de células endógenas e expressão de moduladores ou fatores neurotróficos[110]. As terapêuticas baseadas em células estacionárias podem ser utilizadas para substituição de neurónios danificados ou mortos, fornecer suporte trófico para facilitar a sobrevivência e a reparação neuronal ou atuar como uma plataforma para a terapêutica genética *ex vivo*, na qual os neurónios transplantados são geneticamente modificados para produzir substâncias terapêuticas[110].

A resistência aos fármacos é um dos problemas mais sérios no tratamento da epilepsia, um esforço muito grande tem sido feito para esclarecer os mecanismos multifatoriais por detrás desta farmacoresistência. Num futuro próximo, à medida que se forem obtendo mais evidências sobre as hipóteses existentes e propostas, poderemos antecipar a aplicação de estratégias de tratamento desenvolvidas a partir do entendimento da resistência, bem como outras abordagens farmacológicas e não-farmacológicas que tenham como objetivo inibir a epileptogénese e a neurodegeneração.

5. Conclusão

Apesar da introdução de novas gerações de fármacos antiepiléticos, a farmacorresistência continua a ser um dos grandes desafios no tratamento da epilepsia.

A hipótese da farmacocinética é suportada por dados que demonstram concentrações plasmáticas subterapêuticas de fármaco em doentes refratários, mas faltam evidências adicionais em estudos animais e humanos. A hipótese da rede neuronal foi inspirada em evidências moleculares que mostram a existência de moléculas sinalizadoras que orientam o crescimento anormal dos axônios na epilepsia, mas esta hipótese é limitada pela sua incapacidade de explicar a ocorrência de farmacorresistência em alguns, mas não em todos os doentes com epilepsia refratária. A hipótese da gravidade intrínseca é apoiada pela descoberta clínica de que a alta frequência de crises pré-tratamento está associada à refratariedade, mas falha em explicar os padrões temporais complexos de resistência a antiepiléticos em alguns doentes e a mecanística por detrás da hipótese. A hipótese da variante genética é apoiada por algumas associações identificadas entre variações genéticas e a resistência a antiepiléticos, mas os dados obtidos a partir de estudos são muitas vezes inconsistentes e precisam de ser confirmados em ensaios com uma maior população. A evidencia mais forte para a existência da hipótese do alvo é a perda dos canais de sódio uso-dependentes devido ao bloqueio pela carbamazepina. Finalmente, a teoria científica que reúne maior consenso é a hipótese do transportador, estando fortemente apoiada pela evidência da superexpressão de transportadores de efluxo na BHE. Todavia, outros aspetos referentes a esta hipótese continuam controversos, especialmente a relevância clínica da superexpressão do transportador de efluxo e o estatuto de substrato de muitos antiepiléticos.

Fica claro pelas evidências atuais que a farmacorresistência na epilepsia é um fenómeno multifatorial, mas com base nas evidências existentes são necessários mais estudos para reforçar e integrar as teorias já existentes com o objetivo de orientar o desenvolvimento de novas terapêuticas para a epilepsia.

Bibliografia

- [1] Á. R. da Costa, P. de C. Corrêa, and A. K. Partata, “Epilepsia e os fármacos mais utilizados no seu tratamento,” *Rev. Científica do ITPAC*, vol. 5, pp. 1–6, 2012.
- [2] R. S. Fisher *et al.*, “Classificação Operacional das Crises da ILAE: Artigo de Consenso da Comissão da ILAE para a Classificação e Terminologia”, *Epilepsia*, vol. 58, no. 4, pp. 522–530, 2017.
- [3] G. L. Alves, "Caracterização farmacocinética do acetato de eslicarbazepina e dos seus metabolitos S-licarbazepina e R-licarbazepina em murganhos". Tese de Doutoramento, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal, 2008.
- [4] G. Liu, N. Slater, and A. Perkins, “Epilepsy: Treatment Options”, *Am. Fam. Physician*, vol. 96, no. 2, pp. 87–96, 2017.
- [5] “Decreto-Lei nº45/2005,” 2005.
- [6] Liga Portuguesa Contra a Epilepsia, “Epilepsia e Generalidades” *in*: (<http://www.epilepsia.pt/pt/lpce/geberalidades-sobre-epilepsia>)(consultado em 29/03/2019)
- [7] “A epilepsia é mais do que ter crises - Saúde e Medicina - SAPO Lifestyle.” [Online]. Available: <https://lifestyle.sapo.pt/saude/saude-e-medicina/artigos/a-epilepsia-e-mais-do-que-ter-crisis>. [Accessed: 29-Mar-2019].
- [8] F. Tang, A. M. S. Hartz, and B. Bauer, “Drug-resistant epilepsy: Multiple hypotheses, few answers”, *Front. Neurol.*, vol. 8, pp. 1–19, 2017.
- [9] C. Moreira, “Neurónio”, vol. 1, pp. 1–3, 2013.
- [10] M. Lawal, H. Omobayo, and K. Lawal, “Epilepsy: pathophysiology, clinical manifestations and treatment options”, *Br. J. Neurosci. Nurs.*, vol. 14, no. 2, pp. 58–72, 2018.
- [11] S. Weinstein, “Seizures and epilepsy: An overview”, *Epilepsy Intersect. Neurosci. Biol. Math. Eng. Phys.*, pp. 65–77, 2016.
- [12] S. Kochen and E. M. T. Yacubian, *Crises epilépticas*. .
- [13] I. E. Scheffer *et al.*, “Classificação das epilepsias da ILAE: Relatório da Comissão de Classificação e Terminologia da ILAE”, *Sameer M. Zuberi Epilepsia*, vol. 18, no. 4, pp. 512–521, 2017.
- [14] A. M. A. Francisco, "Estudo da lamotrigina em doentes epilépyicos submetidos a monitorização vídeo-electroencefalográfica", Tese de Doutoramento, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal, 2008.
- [15] L. Claes *et al.*, “De Novo Mutations in the Sodium-Channel Gene SCN1A Cause Severe Myoclonic Epilepsy of Infancy”, pp. 1327–1332, 2001.
- [16] A. Vezzani *et al.*, “Infections, inflammation and epilepsy”, *Acta Neuropathol.*, vol. 131, no. 2, pp. 211–234, 2016.
- [17] E. Lancaster and J. Dalmau, “Neuronal autoantigens-pathogenesis, associated disorders and antibody testing”, *Nat. Rev. Neurol.*, vol. 8, no. 7, pp. 380–390, 2012.
- [18] A. Golyala and P. Kwan, “Drug development for refractory epilepsy: The past 25 years and beyond”, *Seizure*, vol. 44, pp. 147–156, 2017.
- [19] M. Bialer and H. S. White, “Key factors in the discovery and development of new antiepileptic drugs”, *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 9, no. 1, pp. 68–82, 2010.
- [20] E. Perruca, “An Introduction to Antiepileptic Drugs”, *Epilepsia*, vol. 46, no. 4, pp. 31–37, 2005.
- [21] D. McCorry, D. Chadwick, and A. Marson, “Current drug treatment of epilepsy in adults”, *Lancet Neurol.*, vol. 3, no. 12, pp. 729–735, 2004.

- [22] S. Cotterman-Hart, "Antiepileptic Drugs: Second and Third Generation." Elsevier Inc., chapter 12, pp. 171-193, 2015.
- [23] A. Reimers and E. Brodtkorb, "Second-generation antiepileptic drugs and pregnancy: A guide for clinicians", *Expert Rev. Neurother.*, vol. 12, no. 6, pp. 707–717, 2012.
- [24] J. J. Łuszczki, "Third-generation antiepileptic drugs: Mechanisms of action, pharmacokinetics and interactions", *Pharmacol. Reports*, vol. 61, no. 2, pp. 197–216, 2009.
- [25] C. E. Stafstrom, "Intrinsic severity as a determinant of antiepileptic drug refractoriness", vol. 5, no. 4, pp. 121–129, 2005.
- [26] P. Beleza, "Refractory epilepsy: A clinically oriented review", *Eur. Neurol.*, vol. 62, no. 2, pp. 65–71, 2009.
- [27] S. M. Sisodiya *et al.*, "Drug resistance in epilepsy: Expression of drug resistance proteins in common causes of refractory epilepsy", *Brain*, vol. 125, no. 1, pp. 22–31, 2002.
- [28] A. Lazarowski *et al.*, "ABC transporters during epilepsy and mechanisms underlying multidrug resistance in refractory epilepsy", *Epilepsia*, vol. 48, no. SUPPL. 5, pp. 140–149, 2007.
- [29] M. R. Salih, M. B. Bahari, and A. Y. Abd, "Selected pharmacokinetic issues of the use of antiepileptic drugs and parenteral nutrition in critically ill patients", *Nutr. J.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–13, 2010.
- [30] E. A. Van Vliet *et al.*, "Region-specific overexpression of P-glycoprotein at the blood-brain barrier affects brain uptake of phenytoin in epileptic rats", *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 322, no. 1, pp. 141–147, 2007.
- [31] G. A. McMillin and M. D. Krasowski, "Therapeutic Drug Monitoring of Newer Antiepileptic Drugs", *Clin. Challenges Ther. Drug Monit. Spec. Popul. Physiol. Cond. Pharmacogenomics*, no. 3, pp. 101–134, 2016.
- [32] M. Fang *et al.*, "A new hypothesis of drug refractory epilepsy: Neural network hypothesis," *Med. Hypotheses*, vol. 76, no. 6, pp. 871–876, 2011.
- [33] M. V Sofroniew and M. V Sofroniew, "Astrogliosis," 2014.
- [34] M. A. Rogawski, "The intrinsic severity hypothesis of pharmacoresistance to antiepileptic drugs", *Epilepsia*, vol. 54, pp. 33–40, 2013.
- [35] N. Hitiris *et al.*, "Predictors of pharmacoresistant epilepsy", *Epilepsy Res.*, vol. 75, no. 2–3, pp. 192–196, 2007.
- [36] M. Musicco *et al.*, "Treatment of first tonic-clonic seizure does not improve the prognosis of epilepsy", *Neurology*, vol. 49, no. 4, pp. 991–998, 1997.
- [37] P. A. K. Wan, "Early identification of refractory epilepsy", *N. Engl. J. Med.*, 2000.
- [38] M. Avoli, G. Biagini, and M. de Curtis, "New developments in antiepileptic drug resistance: an integrative view", *Epilepsy Curr.*, vol. 6, no. 6, pp. 203–207, 2006.
- [39] W. Löscher and D. Schmidt, "Modern antiepileptic drug development has failed to deliver: Ways out of the current dilemma", *Epilepsia*, vol. 52, no. 4, pp. 657–678, 2011.
- [40] C. Depondt, "The potential of pharmacogenetics in the treatment of epilepsy", *Eur. J. Paediatr. Neurol.*, vol. 10, no. 2, pp. 57–65, 2006.
- [41] S. K. Tate *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.*, vol. 102, no. 15, pp. 5507–5512, 2005.
- [42] J. Van der Weide *et al.*, "The effect of genetic polymorphism of cytochrome P450 CYP2C9 on phenytoin dose requirement", *Pharmacogenetics*, vol. 11, no. 4, pp. 287–291, 2001.

- [43] S. Remy and H. Beck, "Molecular and cellular mechanisms of pharmacoresistance in epilepsy", *Brain*, vol. 129, no. 1, pp. 18–35, 2006.
- [44] P. Kwan *et al.*, "Multidrug resistance in epilepsy and polymorphisms in the voltage-gated sodium channel genes SCN1A, SCN2A, and SCN3A: Correlation among phenotype, genotype, and mRNA expression", *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 18, no. 11, pp. 989–998, 2008.
- [45] S. K. Tate *et al.*, "A common polymorphism in the SCN1A gene associates with phenytoin serum levels at maintenance dose", *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 16, no. 10, pp. 721–726, 2006.
- [46] S. Grover, M. Gupta, and R. Kukreti, "Challenges and recommendations for conducting epidemiological studies in the field of epilepsy pharmacogenetics", *Indian J. Hum. Genet.*, vol. 17, no. SUPPL. 1, 2011.
- [47] S. Remy *et al.*, "A novel mechanism underlying drug resistance in chronic epilepsy", *Ann. Neurol.*, vol. 53, no. 4, pp. 469–479, 2003.
- [48] N. Hitiris and M. J. Brodie, "Modern antiepileptic drugs: Guidelines and beyond", *Curr. Opin. Neurol.*, vol. 19, no. 2, pp. 175–180, 2006.
- [49] W. Löscher and H. Potschka, "Role of multidrug transporters in pharmacoresistance to antiepileptic drugs", *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 301, no. 1, pp. 7–14, 2002.
- [50] S. M. Sisodiya *et al.*, "Vascular colocalization of P-glycoprotein, multidrug-resistance associated protein 1, breast cancer resistance protein and major vault protein in human epileptogenic pathologies", *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, vol. 32, no. 1, pp. 51–63, 2006.
- [51] D. M. Tishler *et al.*, "MDR1 Gene Expression in Brain of Patients with Medically Intractable Epilepsy", *Epilepsia*, vol. 36, no. 1, pp. 1–6, 1995.
- [52] W. Loscher *et al.*, "Do ATP-Binding Cassette Transporters Cause Pharmacoresistance in Epilepsy? Problems and Approaches in Determining which Antiepileptic Drugs are Affected", *Curr. Pharm. Des.*, vol. 17, no. 26, pp. 2808–2828, 2012.
- [53] P. Kwan and M. J. Brodie, "Potential role of drug transporters in the pathogenesis of medically intractable epilepsy", *Epilepsia*, vol. 46, no. 2, pp. 224–235, 2005.
- [54] H. Potschka and W. Löscher, "In vivo evidence for P-glycoprotein-mediated transport of phenytoin at the blood-brain barrier of rats", *Epilepsia*, vol. 42, no. 10, pp. 1231–1240, 2001.
- [55] S. M. Dombrowski *et al.*, "Overexpression of multiple drug resistance genes in endothelial cells from patients with refractory epilepsy", *Epilepsia*, vol. 42, no. 12, pp. 1501–1506, 2001.
- [56] E. E. Chufan, H. M. Sim, and S. V. Ambudkar, "*Molecular Basis of the Polyspecificity of P-Glycoprotein (ABCB1)*. Recent Biochemical and Structural Studies.", 1st ed., vol. 125. Elsevier Inc., 2015.
- [57] G. J. Sills *et al.*, "P-glycoprotein-mediated efflux of antiepileptic drugs: Preliminary studies in *mdr1a* knockout mice", *Epilepsy Behav.*, vol. 3, no. 5, pp. 427–432, 2002.
- [58] S.-F. Zhou *et al.*, "Substrates and Inhibitors of Human Multidrug Resistance Associated Proteins and the Implications in Drug Development", *Curr. Med. Chem.*, vol. 15, no. 20, pp. 1981–2039, 2008.
- [59] D. Keppler, "Multidrug Resistance Proteins (MRPs, ABCCs): Importance for Pathophysiology and Drug Therapy" vol. 201, pp. 299–323, 2011.
- [60] E. Aronica *et al.*, "Expression and Cellular Distribution of Multidrug Resistance-related Proteins in the Hippocampus of Patients with Mesial Temporal Lobe

- Epilepsy”, *Epilepsia*, vol. 45, no. 5, pp. 441–451, 2004.
- [61] E. Aronica *et al.*, “Localization of breast cancer resistance protein (BCRP) in microvessel endothelium of human control and epileptic brain”, *Epilepsia*, vol. 46, no. 6, pp. 849–857, 2005.
- [62] Q. Mao and J. D. Unadkat, “Role of the Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2) in Drug Transport—an Update”, *AAPS J.*, vol. 17, no. 1, pp. 65–82, 2015.
- [63] J. Y. W. Liu *et al.*, “Neuropathology of the blood-brain barrier and pharmacoresistance in human epilepsy”, *Brain*, vol. 135, no. 10, pp. 3115–3133, 2012.
- [64] H. Ak *et al.*, “Expression and cellular distribution of multidrug resistance-related proteins in patients with focal cortical dysplasia”, *Seizure*, vol. 16, no. 6, pp. 493–503, 2007.
- [65] Y. Sun *et al.*, “Neural overexpression of multidrug resistance-associated protein 1 and refractory epilepsy: A meta-analysis of nine studies”, *Int. J. Neurosci.*, vol. 126, no. 4, pp. 308–317, 2016.
- [66] C. Zhang *et al.*, “The transport of antiepileptic drugs by P-glycoprotein” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 64, no. 10, pp. 930–942, 2012.
- [67] H. A. Volk and W. Löscher, “Multidrug resistance in epilepsy: Rats with drug-resistant seizures exhibit enhanced brain expression of P-glycoprotein compared with rats with drug-responsive seizures”, *Brain*, vol. 128, no. 6, pp. 1358–1368, 2005.
- [68] S. Syvänen and J. Eriksson, “Advances in PET imaging of P-glycoprotein function at the blood-brain barrier”, *ACS Chem. Neurosci.*, vol. 4, no. 2, pp. 225–237, 2013.
- [69] O. Langer *et al.*, “Pharmacoresistance in epilepsy: A pilot PET study with the P-glycoprotein substrate R-[11C]verapamil”, *Epilepsia*, vol. 48, no. 9, pp. 1774–1784, 2007.
- [70] M. Feldmann *et al.*, “P-glycoprotein expression and function in patients with temporal lobe epilepsy: A case-control study”, *Lancet Neurol.*, vol. 12, no. 8, pp. 777–785, 2013.
- [71] C. Zhang *et al.*, “In vitro concentration dependent transport of phenytoin and phenobarbital, but not ethosuximide, by human P-glycoprotein”, *Life Sci.*, vol. 86, no. 23–24, pp. 899–905, 2010.
- [72] W. Löscher and H. Potschka, “Drug resistance in brain diseases and the role of drug efflux transporters”, *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 6, no. 8, pp. 591–602, 2005.
- [73] H. Potschka, “Modulating P-glycoprotein regulation: Future perspectives for pharmacoresistant epilepsies?”, *Epilepsia*, vol. 51, no. 8, pp. 1333–1347, 2010.
- [74] M. Rizzi *et al.*, “Limbic seizures induce P-glycoprotein in rodent brain: Functional implications for pharmacoresistance”, *J. Neurosci.*, vol. 22, no. 14, pp. 5833–5839, 2002.
- [75] E. Van Vliet *et al.*, “Selective and persistent upregulation of *mdr1b* mRNA and P-glycoprotein in the parahippocampal cortex of chronic epileptic rats”, *Epilepsy Res.*, vol. 60, no. 2-3 SPEC. ISS., pp. 203–213, 2004.
- [76] J. P. Bankstahl and W. Löscher, “Resistance to antiepileptic drugs and expression of P-glycoprotein in two rat models of status epilepticus”, *Epilepsy Res.*, vol. 82, no. 1, pp. 70–85, 2008.
- [77] E. A. Van Vliet *et al.*, “Expression of multidrug transporters MRP1, MRP2, and BCRP shortly after status epilepticus, during the latent period, and in chronic epileptic rats”, *Epilepsia*, vol. 46, no. 10, pp. 1569–1580, 2005.
- [78] W. M. Pardridge, “Blood-brain barrier genomics and the use of endogenous transporters to cause drug penetration into the brain”, *Curr. Opin. Drug Discov.*

- Dev.*, vol. 6, no. 5, pp. 683–691, 2003.
- [79] U. Seegers, H. Potschka, and W. Löscher, “Lack of effects of prolonged treatment with phenobarbital or phenytoin on the expression of P-glycoprotein in various rat brain regions”, *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 451, no. 2, pp. 149–155, 2002.
- [80] Y. Wang-Tilz *et al.*, “Influence of lamotrigine and topiramate on MDR1 expression in difficult-to-treat temporal lobe epilepsy” *Epilepsia*, vol. 47, no. 2, pp. 233–239, 2006.
- [81] H. Potschka, H. A. Volk, and W. Löscher, “Pharmacoresistance and of expression of multidrug transporter P-glycoprotein in kindled rats” *Neuroreport*, vol. 15, no. 10, pp. 1657–1661, 2004.
- [82] A. Lazarowski *et al.*, “Neuronal and Glial Expression of the Multidrug Resistance Gene Product in an Experimental Epilepsy Model”, *Cell. Mol. Neurobiol.*, vol. 24, no. 1, pp. 77–85, 2004.
- [83] C. Höcht *et al.*, “Nimodipine restores the altered hippocampal phenytoin pharmacokinetics in a refractory epileptic model”, *Neurosci. Lett.*, vol. 413, no. 2, pp. 168–172, 2007.
- [84] A. Enrique *et al.*, “New model of pharmacoresistant seizures induced by 3-mercaptopropionic acid in mice”, *Epilepsy Res.*, vol. 129, pp. 8–16, 2017.
- [85] S. Hoffmeyer *et al.*, “Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: Multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 97, no. 7, pp. 3473–3478, 2000.
- [86] P. Kwan *et al.*, “Gene-wide tagging study of association between ABCB1 polymorphisms and multidrug resistance in epilepsy in Han Chinese”, *Pharmacogenomics*, vol. 10, no. 5, pp. 723–732, 2009.
- [87] G. D. Leschziner *et al.*, “ABCB1 genotype and PGP expression, function and therapeutic drug response: A critical review and recommendations for future research”, *Pharmacogenomics J.*, vol. 7, no. 3, pp. 154–179, 2007.
- [88] W. Siegmund *et al.*, “The effects of the human MDR1 genotype on the expression of duodenal P-glycoprotein and disposition of the probe drug talinolol”, *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 72, no. 5, pp. 572–583, 2002.
- [89] A. Siddiqui *et al.*, “Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism in the drug-transporter gene ABCB1”, *N. Engl. J. Med.*, vol. 348, no. 15, pp. 1442–1448, 2003.
- [90] N. C. K. Tan *et al.*, “Failure to confirm association of a polymorphism in ABCB1 with multidrug-resistant epilepsy”, *Neurology*, vol. 63, no. 6, pp. 1090–1092, 2004.
- [91] G. J. Sills *et al.*, “Lack of association between the C3435T polymorphism in the human multidrug resistance (MDR1) gene and response to antiepileptic drug treatment”, *Epilepsia*, vol. 46, no. 5, pp. 643–647, 2005.
- [92] D. W. Kim *et al.*, “Lack of association between C3435T nucleotide MDR1 genetic polymorphism and multidrug-resistant epilepsy”, *Seizure*, vol. 15, no. 5, pp. 344–347, 2006.
- [93] G. D. Leschziner *et al.*, “Common ABCB1 polymorphisms are not associated with multidrug resistance in epilepsy using a gene-wide tagging approach”, *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 17, no. 3, pp. 217–220, 2007.
- [94] A. Shahwan *et al.*, “The controversial association of ABCB1 polymorphisms in refractory epilepsy: An analysis of multiple SNPs in an Irish population”, *Epilepsy Res.*, vol. 73, no. 2, pp. 192–198, 2007.
- [95] S. M. Sisodiya, “Mechanisms of antiepileptic drug resistance”, *Curr. Opin.*

- Neurol.*, vol. 16, pp. 197–201, 2003.
- [96] I. Cascorbi, “ABC transporters in drug-refractory epilepsy: Limited clinical significance of pharmacogenetics?”, *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 87, no. 1, pp. 15–18, 2010.
- [97] W. Loscher and O. Langer, “Imaging of P-glycoprotein Function and Expression to Elucidate Mechanisms of Pharmacoresistance in Epilepsy”, *Curr. Top. Med. Chem.*, vol. 10, no. 17, pp. 1785–1791, 2010.
- [98] J. W. Shin *et al.*, “Clinical applications of simultaneous PET/MR imaging using (R-[11C]-verapamil with cyclosporin a: Preliminary RESULTS on a surrogate marker of drug-resistant epilepsy”, *Am. J. Neuroradiol.*, vol. 37, no. 4, pp. 600–606, 2016.
- [99] M. Bauer *et al.*, “In vivo P-glycoprotein function before and after epilepsy surgery”, *Neurology*, vol. 83, no. 15, pp. 1326–1331, 2014.
- [100] F. J.A. *et al.*, “Efficacy and tolerability of the new antiepileptic drugs II: Treatment of refractory epilepsy: Report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee and Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Epilepsy Society”, *Neurology*, vol. 62, no. 8, pp. 1261–1273, 2004.
- [101] J. F. J. Engel, Jr., S. Wiebe, “Practice parameter: Temporal lobe and localized neocortical resections for epilepsy: Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology, in Association with the American Epilepsy Society and the American Association of Neuro”, *Neurology*, 2003.
- [102] G. L. Morris *et al.*, “Evidence-based guideline update: Vagus nerve stimulation for the treatment of epilepsy: Report of the guideline development subcommittee of the american academy of neurology”, *Neurology*, vol. 81, no. 16, pp. 1453–1459, 2013.
- [103] P. Kwan and M. J. Brodie, “Refractory epilepsy: Mechanisms and solutions”, *Expert Rev. Neurother.*, vol. 6, no. 3, pp. 397–406, 2006.
- [104] M. A. Summers, J. L. Moore, and J. W. McAuley, “Use of verapamil as a potential P-glycoprotein inhibitor in a patient with refractory epilepsy”, *Ann. Pharmacother.*, vol. 38, no. 10, pp. 1631–1634, 2004.
- [105] J. Narayanan *et al.*, “Low dose verapamil as an adjunct therapy for medically refractory epilepsy – An open label pilot study”, *Epilepsy Res.*, vol. 126, pp. 197–200, 2016.
- [106] B. Bauer *et al.*, “Seizure-induced up-regulation of P-glycoprotein at the blood-brain barrier through glutamate and cyclooxygenase-2 signaling”, *Mol. Pharmacol.*, vol. 73, no. 5, pp. 1444–1453, 2008.
- [107] G. Zibell *et al.*, “Prevention of seizure-induced up-regulation of endothelial P-glycoprotein by COX-2 inhibition”, *Neuropharmacology*, vol. 56, no. 5, pp. 849–855, 2009.
- [108] L. J. Stephen and M. J. Brodie, “Pharmacotherapy of epilepsy: Newly approved and developmental agents”, *CNS Drugs*, vol. 25, no. 2, pp. 89–107, 2011.
- [109] E. Perucca, J. French, and M. Bialer, “Development of new antiepileptic drugs: challenges, incentives, and recent advances”, *Lancet Neurol.*, vol. 6, no. 9, pp. 793–804, 2007.
- [110] A. T. Sørensen and M. Kokaia, “Novel approaches to epilepsy treatment”, *Epilepsia*, vol. 54, no. 1, pp. 1–10, 2013.
- [111] M. Hocquemiller *et al.*, “AAV based gene therapy for CNS diseases.” *Hum. Gene Ther.*, pp. 1–39, 2016.