

分类号：
学 号：20192115005

密 级：内部★1年
单位代码：10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



利用 GA-BP 神经网络预测新疆 癫痫患儿拉莫三嗪血药浓度的相关研究

学 位 申 请 人	马雪
指 导 教 师	于鲁海 主任药师
申 请 学 位 类 别	专业硕士
专 业 名 称	药学
研 究 领 域	临床药学及药物评价
所 在 学 院	药学院

中国·新疆·石河子

2022 年 6 月

分类号：
学 号：20192115005

密 级：内部★1年
单位代码：10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



利用 GA-BP 神经网络预测新疆 癫痫患儿拉莫三嗪血药浓度的相关研究

学 位 申 请 人	马雪
指 导 教 师	于鲁海 主任药师
申 请 学 位 类 别	专业硕士
专 业 名 称	药学
研 究 领 域	临床药学及药物评价
所 在 学 院	药学院

中国·新疆·石河子
2022 年 6 月

**Prediction of Lamotrigine Blood Concentration in Children with
Epilepsy in Xinjiang Using GA-BP Neural Network A study Related to
Blood Concentration of Lamotrigine in Children with Epilepsy**

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In partial fulfillment of the Requirments

For the Degree of

Master of Pharmacy

By

Ma Xue

(Clinical Pharmacy and Drug Evaluation)


Dissertation Supervisor: Chief pharmacist Yu Lu-hai

June, 2022

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明


本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：

时间： 2022 年 6 月 1 日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：

时间： 2022 年 6 月 1 日

导师签名：

时间： 2022 年 6 月 1 日

中文摘要

目的: 1.建立一种超高效液相色谱法 (Ultra Performance Liquid Chromatography, UPLC) 用于测定新疆癫痫患儿服用拉莫三嗪 (Lamotrigine, LTG) 后药物浓度的方法, 应用于癫痫患儿的个体化治疗。2.收集自治区人民医院血药浓度达稳态的癫痫患儿病例总计 300 例, 分析抗癫痫药物拉莫三嗪在新疆癫痫患儿中血药浓度影响因素。3.构建 LTG 血药浓度的遗传-反向 (genetic algorithm - backpropagation, GA - BP) 传播神经网络预测模型, 初步为需要调整 LTG 使用剂量或不能进行 LTG 血药浓度监测的患儿提供浓度预测, 可以根据个体化情况在临床中快速、有效地制定给药方案。

方法: 1.色谱条件: 色谱柱: Waters ACQUITY UPLC BEH C18 柱 (2.1 mm×50.0 mm, 1.7 μm), 流动相: 乙腈-乙酸铵溶液 (10 mmol/L, 用甲酸调 pH 至 4.1)=20:80, 检测波长: 240 nm, 柱温: 30 °C, 流速: 0.2 mL/min, 进样量: 2 μL, 在此条件下对 LTG 血药浓度检测方法学进行验证。2.回顾性收集自治区人民医院 2015 年 10 月-2021 年 10 月就诊的规律服用 LTG 血药浓度达稳态的癫痫患儿病例总计 300 例, 对于患儿的年龄、性别、民族与合并用药等变量进行分组, 将已分组的患儿的 LTG 给药剂量和血药浓度进行方差分析; 对其他连续性变量进行多元线性回归分析。3.将 300 例患儿分为建模组 (240 例) 和模型验证组 (60 例), 利用主成分分析法、多元线性回归分析法等三种方法筛选变量。通过试凑法选取变量, 将选择的变量应用在人工神经网络中预测血药浓度, 对比各组变量建立的模型的预测结果, 选择最优模型, 最终构建 GA-BP 神经网络模型预测服用 LTG 的新疆癫痫患儿的血药浓度。

结果: 1. 通过 UPLC 法测定 LTG 血药浓度的方法专属性较好, 患者血清内的其他物质不会对浓度测定造成干扰, LTG 的保留时间为 1.91 min, LTG 在 2.50~40.00 μg/mL 范围内线性关系良好, $r=0.9998$, 线性回归方程为 $Y=6506X-5236.6$, 定量限为 2.5 μg/mL, 最低检测限为 1 μg/mL; 日内和日间准确度在 97.80%~104.68%, 精密度在 0.58%~1.56%, 日内、日间 RSD 值均小于 15%, 提取回收率 97.98%~103.70%。2.研究共纳入 300 例癫痫患儿, 其中男性患儿 166 例, 女性患儿 134 例, 年龄 (8.49 ± 4.01) 岁, 体重 (32.01 ± 17.91) kg, 身高 (131.19 ± 25.82) cm。分析身高、年龄、性别、给药剂量、合并用药、身体质量指数、白蛋白、谷丙转氨酶、淋巴细胞百分比、中性粒细胞百分比、红细胞计数、血红蛋白、体重、白细胞计数、总蛋白、血小板计数、谷草转氨酶、尿素氮、肌酐、 γ -谷氨酰转肽酶、球蛋白等因素与血药浓度的相关性, 结果显示白细胞计数、血小板计数、民族、0~3 岁以及 6~16 的患儿浓度剂量比、LTG 合用葡萄糖醛酸化抑制剂组等因素与血药浓度差异之间有统计学意义 (均 $P < 0.05$); 而性别、3~6 岁患儿的浓度剂量比、LTG 单药、LTG 合用葡萄糖醛酸化诱导剂组等因素血药浓度差异之间无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。3.将筛选出的变量通过 GA-BP 神经网络建立预测模型后, 利用 60 例模型验证组的癫痫患儿进行血药浓度预测, 并将预测浓度与实测浓度进行比较, 其

中误差值小于 15% 的占比是 93.33%，平均预测误差值为 0.23%，平均绝对误差值为 3.92%，预测值与实测值的相关系数为 0.9864，预测的结果比较理想。

结论： 1.成功构建了 UPLC 测定 LTG 血药浓度的方法。2.利用多元线性回归分析法，筛选出白细胞计数、血小板计数、年龄、合并用药等会影响患者体内 LTG 药物浓度水平的因素，并为后续建立浓度预测模型变量的筛选提供了参考。3.利用 GA-BP 神经网络成功构建 LTG 血药浓度预测模型，提示 GA-BP 神经网络可用于预测新疆癫痫患儿 LTG 血药浓度，可用于临床个体化给药。

关键词： GA-BP 神经网络；拉莫三嗪；血药浓度

Abstract

Objective: 1. To develop an Ultra Performance Liquid Chromatography method for the determination of drug concentrations in children with epilepsy in Xinjiang, which was administrated of Lamotrigine (LTG) and applied to the individualized treatment of epileptic children. 2. A total of 300 cases of children with epilepsy whose blood concentration reached steady in the People's Hospital of the autonomous region were collected, and the factors affecting the blood concentration of the antiepileptic drug lamotrigine in children with epilepsy in XinJiang were analyzed. 3. A genetic algorithm - backpropagation (GA - BP) propagation neural network prediction model for lamotrigine blood concentrations was constructed to initially provide concentration prediction for children who need to adjust the dose of lamotrigine or who cannot be monitored for lamotrigine blood concentrations, allowing rapid and effective dosing regimens to be developed in the clinic based on individualised situations.

Methods: 1. Chromatographic conditions: column: Waters ACQUITY UPLC BEH C18 column (2.1 mm×50.0 mm, 1.7 μ m), mobile phase: acetonitrile-ammonium acetate solution (10 mol/L, pH adjusted to 4.1 with formic acid) = 20:80, detection wavelength: 240 nm, column temperature: 30 °C, flow rate: 0.2 mL / min. The methodological validation of the LTG blood concentration assay was carried out under these conditions. 2. A total of 300 cases of children with epilepsy who were regularly taking LTG at steady-state blood concentrations from October 2015 to October 2021 in the People's Hospital of the Autonomous Region were retrospectively collected, and the children were grouped by age, gender, ethnicity and combined medication. The LTG dose and blood concentration of the grouped children were subjected to ANOVA analysis of variance; the other continuous variables were subjected to multiple linear regression analysis. 3. The 300 children were divided into modelling group (240 cases) and model validation group (60 cases), and the variables were screened using three methods such as principal component analysis and multiple linear regression analysis. The variables were selected by trial-and-error method, and the selected variables were applied in the artificial neural network to predict blood drug concentrations. The prediction results of the models established by the variables in each group were compared, and the optimal model was selected, and the GA-BP neural network model was finally constructed to predict the blood concentration of epileptic children in XinJing who were taking LTG.

Result: The method of determining LTG blood levels by UPLC has good specificity and other substances in the patient's serum do not interfering the concentration determination. The retention time of LTG is 1.91 min. The linearity of LTG is good at the range of 2.50~40.00 μg/mL and the related coefficient correlation

is 0.9998, the linear regression equation is $Y=6506X-5236.6$, the limit of quantification is 2.5 ug/mL, and the lowest limit of detection is 1ug/mL; the intra-day and inter-day accuracies ranged from 97.80% to 104.68%, the precision ranged from 0.58% to 1.56%, the intra-day and inter-day RSD values are less than 15%, and the extraction recoveries are 97.98% ~ 103.70%. 2. 300 children with epilepsy were collected in the study, including 166 males and 134 females, aged (8.49 ± 4.01) years, weighing (32.01 ± 17.91) kg and standing (131.19 ± 25.82) cm, were included in the study. Height, age, sex, dose, combined medication, body mass index, albumin, glutathione, lymphocyte percentage, neutrophil percentage, red blood cell count, haemoglobin, body weight, white blood cell count, total protein, haemoglobin, and haematocrit were analysed. The results showed that the factors such as leukocyte count, platelet count, ethnicity, concentration-dose ratio in children aged 0 to 3 years and 6 to 16 years, and LTG combined with glucuronidation inhibitor group have statistically significant difference (all $P < 0.05$). While there was no statistically significant difference between factors such as gender, concentration-dose ratio in children aged 3 to 6 years, LTG alone, and LTG combined with glucuronidation inducer group (all $P > 0.05$). 3. The prediction model was established by GA-BP neural network for the screened variables, and 60 children with epilepsy in the model validation group were used to predict blood drug concentrations. The percentage of error values less than 15% is 93.33%, the mean prediction error value is 0.23%, the mean absolute error value is 3.92%, and the correlation coefficient between the predicted and measured values is 0.9864, the prediction result is more satisfactory.

Conclusions: 1. A UPLC method for the determination of LTG blood concentration is successfully constructed. 2. Using multiple linear regression analysis, factors of white blood cell count, platelet count, age and combined medications that would affect the level of LTG drug concentration in patients are screened, and provided a reference for the subsequent screening of variables for the establishment of concentration prediction models. 3. A GA-BP neural network is used to successfully construct a LTG blood concentration prediction model. The model suggested that the GA-BP neural network could be used to predict LTG blood concentration in children with epilepsy in Xinjiang, and could be used for individualized clinical drug administration.

Key words: GA-BP neural network; lamotrigine; blood concentration

目录

中文摘要	I
Abstract	III
中英文对照表	XII
前言	1
第 1 章 拉莫三嗪治疗癫痫的研究进展	5
1.1 癫痫的分类	5
1.2 拉莫三嗪治疗癫痫机制	5
1.3 拉莫三嗪的药代动力学	6
1.3.1 吸收	6
1.3.2 分布	6
1.3.3 代谢	6
1.3.4 排泄	6
1.4 拉莫三嗪治疗成人的研究现状	7
1.4.1 国内现状	7
1.4.2 国外现状	8
1.5 拉莫三嗪治疗儿童的研究现状	8
1.5.1 国内现状	8
1.5.2 国外现状	9
1.6 拉莫三嗪治疗癫痫的使用剂量	10
1.6.1 拉莫三嗪单药治疗	10
1.6.2 拉莫三嗪联合用药治疗	10
1.7 拉莫三嗪所致不良反应	11
1.7.1 常见的不良反应	11
1.7.2 不良反应的防治	12
1.8 总结与展望	12
第 2 章 拉莫三嗪血药浓度测定方法学建立	13
2.1 仪器与试剂	13
2.1.1 色谱条件	13
2.1.2 对照品溶液的配制	14
2.1.3 标准血清样本配制	14

2.1.4	流动相的配置	14
2.1.5	血样处理方法	14
2.2	方法学考察	14
2.2.1	专属性	14
2.2.2	标准曲线与线性范围	16
2.2.3	方法精密度和准确度	17
2.2.4	样品的稳定性	17
2.2.5	提取回收率	18
2.3	讨论	18
第 3 章	拉莫三嗪在癫痫患儿中血药浓度相关影响因素分析	20
3.1	数据收集	20
3.1.1	受试者选择	20
3.1.2	入选标准	20
3.1.3	排除标准	21
3.1.4	癫痫定义和判定标准 ^[76]	21
3.1.5	临床疗效观察 ^[76]	21
3.1.6	癫痫治愈的标准 ^[76]	21
3.2	数据收集	22
3.2.1	样本病例数采集	22
3.2.2	拉莫三嗪血药浓度测定	22
3.2.3	临床资料	22
3.2.4	统计学处理	24
3.3	结果	24
3.3.1	影响拉莫三嗪血药浓度因素的多元线性回归分析	24
3.3.2	年龄因素对拉莫三嗪血药浓度的影响	24
3.3.3	性别因素对拉莫三嗪血药浓度的影响	25
3.3.4	拉莫三嗪与给药剂量的相关性分析	25
3.3.5	合并用药对拉莫三嗪血药浓度的影响	26
3.3.6	民族对拉莫三嗪血药浓度的影响	26
3.4	讨论	27
第 4 章	GA-BP 神经网络预测拉莫三嗪血药浓度模型建立	29
4.1	主成分分析选取特征变量	29
4.1.1	数据分析过程	29
4.1.2	结果与分析	30

4.2 遗传反向传播神经网络模型建立	32
4.2.1 输入变量筛选方法的确定	32
4.2.2 隐含层数及神经元个数的确定	33
4.2.3 神经网络初始权值的选取	33
4.2.4 模型检验	33
4.2.5 血药浓度预测模块的开发	34
4.3 数据处理	34
4.3.1 处理数据	34
4.3.2 数据分析	34
4.4 GA-BP 模型建立	34
4.4.1 数据预处理	34
4.4.2 GA-BP 传播神经网络模型的建立	35
4.4.3 模型验证	36
4.5 结果	36
4.5.1 建模组与模型验证组基本资料	36
4.5.2 浓度预测结果	37
4.5.3 预测值与实测值相关性分析	38
4.6 讨论	40
全文总结	42
参考文献	43
致谢	49
作者简介	50
石河子大学硕士研究生学位论文导师评阅表	51

中英文对照表

英文缩写	英文全名	中文全名
LTG	Lamotrigine	拉莫三嗪
AEDs	Anti-epileptic drugs	抗癫痫药物
CBZ	Carbamazepine	卡马西平
PHT	Phenytoin	苯妥英
VPA	Valproate	丙戊酸钠
LEV	Levetiracetam	左乙拉西坦
ESM	Ethosuximide	乙琥胺
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography	超高效液相色谱法
ANN	Artificial Neural Network	人工神经网络
GA - BP	genetic algorithm - backpropagation	遗传-反向
RBC	Red blood cell	红细胞计数
WBC	Bwhite blood cell	白细胞计数
D	dosage	用药剂量
PCA	Principal Component Analysis	主成分分析法
PE	prediction error	预测误差
MPE	mean prediction error	平均预测误差
MAE	mean absolute prediction error	平均绝对误差
RSD	relative standard deviation	相对标准偏差

前言

癫痫是一种由于大脑神经元异常放电而导致神经系统功能暂时性异常的疾病。2019年6月在第33届国际癫痫大会（international epilepsy congress, IEC）发布的《全球癫痫报告》中提出，现如今全球有约有5000万癫痫患者。直到2017年，在中国大约有900万的癫痫患者，已成为仅次于头痛的第二大精神系统疾病。癫痫发作时会影响病人的正常生活和工作安排，并且如果长期反复频繁地发作，会对癫痫病人的大脑造成一定的损伤，造成精神障碍。癫痫具有程长且无法预测性的特点，癫痫患者的运动功能会受到限制，并会导致患者心理异常^[1]，若患者的病情持续发展可能会影响病人的身体发育和智力发展^[2]。

在对癫痫疾病的研究中了解到，约50%的患有癫痫的患者可以通过药物来控制，但该疾病无法治愈。癫痫的分类包括：强直性发作、失神发作、全面强直阵挛发作、阵挛性发作等等，大量的基础研究和临床研究证实^[3]，不同分类的癫痫患者和不同群体的病人需要不同治疗方案。对癫痫患者的疗效评判包括：开始用药的时间、一线药物的选择、用药的周期和服用药物的剂量^[4]。结合患者病情对其进行用药，目前常用的抗癫痫药物有：LTG、乙琥胺（Ethosuximide, ESM）、苯巴比妥（phenobarbital, PHT）、拉考沙胺（lacosamide）、奥卡西平（oxcarbazepine, OXC）、丙戊酸钠（valproate, VPA）、左乙拉西坦（levetiracetam, LEV）、卡马西平（carbamazepine, CBZ）、托吡酯（topiramate, TGB）、噻加宾等（tiagabine）。

LTG是常用的抗癫痫药物（anti-epileptic drugs, AEDs）之一，根据广东省药学会2016年4月发布的《拉莫三嗪个体化给药临床药师指引》，LTG可用于癫痫的单药或辅助治疗。在单药治疗方面：LTG可治疗部分性和全身性癫痫发作以及简单和复杂部分性发作，在辅助治疗方面：LTG可用于全身性癫痫发作治疗^[5]。查阅《抗癫痫药物应用专家共识》^[6]发现，在全身强直阵挛发作的一线药物丙戊酸治疗失败时，LTG便可作为该类型疾病首选药物；除此之外，失神发作的首选和一线药物也为LTG；对于新诊断症状性部分性癫痫病，可选OXC与CMZ作为的首选药物，当前两种药物治疗失败时，LTG可作为该病的一线药物。除此之外，对于患有癫痫的健康育龄期妇女来说，LTG可作为首选药物治疗患有特发性全面性癫痫与症状性部分性癫痫的这一类妇女；对于只患有癫痫但没有其他系统疾病的老年患者来说首选LTG与OXC为治疗药物；但依据现实情况，患有癫痫的老年患者一般都会合并其他系统疾病，该类老年患者的首选药物为LTG和LEV；对于学龄期癫痫患儿，LTG可作为全面性发作和继发性部分性癫痫发作的首选药物。

有研究显示^[7-8], 服用 LTG 后的不良反应少于服用其他抗癫痫药物, 但 LTG 服用过程中个体间差异很大^[9], LTG 在成人和儿童中的药代动力学是不同的, 治疗儿童癫痫时应考虑到患儿的年龄、癫痫发作的类型、是否有合并用药和剂量等因素^[10], 因此要保障癫痫患儿服用 LTG 的疗效达到最佳就需使药物的浓度保持在有效血药浓度范围内, 应对 LTG 血药浓度进行监测。药物被人体吸收后在血浆内的总浓度为血药浓度^[11], 当药物在人体内的浓度过低时, 药物无法发挥其作用达到最好的疗效; 当药物在人体内的浓度过高时则会导致人体发生不良反应, 所以①要保障患者在服药后药物不对人体造成严重的不良反应; ②医护人员对患者服用药物的类型、剂量可以做出及时调整; ③对患者实现精准用药、个体化用药, 血药浓度的测定具有重大的意义^[12]。由于患者尤其是儿童自身的生理、病理等特性存在一定的差异, 对一类患者群体给予相同的给药方案, 会造成治疗效果差异的差异, 严重的甚至可能导致某些患者治疗无效或发生毒副作用。故对于服用 LTG 的儿童来说, 因为其特殊的生理、病理特性, 有必要研究该类患者血药浓度变化的规律。

对于癫痫患者来说, 合并用药情况、妊娠状态、代谢酶功能等都可能是影响患者服用药物后 LTG 在体内血药浓度水平的因素, 并且还可能由此诱发患者发生不良反应。LTG 血药浓度水平与年龄、合并用药、服药剂量及体重、患儿的肝肾功能、基因多态性以及民族等因素也有紧密的相关性。国外学者 Wein traub 等^[13]对 LTG 的血药浓度进行测定, 研究了 LTG 的清除率与其他 16 种 AEDs 的关系, 研究结果主要分为三类, ①合并用药后可以提高 LTG 清除率的药物, 包括 CBZ、PHT, LTG 与 CBZ 合用可以提高了 125%, 与 PHT 合用可以提高 45%; ②合并用药后可以降低 LTG 清除率的药物, 主要是 VPA, LTG 与 VPA 合用使得 LTG 的药物通过生成代谢物的清除率降低了 60%; ③对 LTG 清除率没有明显影响的其他 AEDs。这一结果与 Chen Y、Reimers A、Han X^[14-16]等的研究是一致的; 有研究表明: 年龄也会影响 LTG 药代动力学变化^[16], 年龄对 LTG 的浓度剂量比有非常显著的影响。当然, 在影响 LTG 的血药浓度的原因当中, 基因多态性也占有重要的地位, 有相关研究提示^[14-17] ABCB1 C1236T, G2677T/A, C3435T 多态性对 LTG 血清浓度有影响。在中国汉族癫痫患者中, OCT1 rs628031 和 ABCG2 rs2231142 基因多态性可能对 LTG 代谢产生影响, 在新疆要考虑到少数民族与汉族基因型差异的问题, 此外, 考虑到患儿年幼儿童的代谢能力与葡萄糖醛酸化能力会随着年龄的增长而发生变化^[18], 其肝酶活性会随着年龄的增长而增强, 并由此加快药物的代谢过程^[19], 考虑到很多因素都会影响到患者体内的血药浓度, 应密切关注患者体内的血药浓度, 以免造成蓄积中毒。

《拉莫三嗪个体化给药临床药师指引》提出以下人群有必要对血药浓度进行监测: ①低龄儿童: 年龄小于七岁; ②妊娠期患者; ③哺乳期患者以及母乳喂养的婴儿; ④合并用药: 影响 UDP-葡萄糖醛酸转移酶活性的药物, 这些药物均会影响 LTG 在人体内的

代谢，与 LTG 发生相互作用；⑤其他患者：医生和临床药师可通过检测依从性不佳或中毒的癫痫患者体内 LTG 浓度，判断病人体内的药物浓度是否在有效浓度范围内。

一般情况下血药浓度的检测方法有以下三种，包括光谱法、免疫法和色谱法，而本研究中所选用的检测方法为超高效液相色谱法（Ultra Performance Liquid Chromatography, UPLC）属于色谱法的一种，该方法与光谱法、免疫法相比较是发展最快、适用性最强的一种方法。色谱法灵敏度高并且具有优越的定量作用和一次分离多种样品的作用^[20]，适合应用在临床监测血药浓度。

药物浓度监测虽然仍是临床上调整剂量的常用方法，但对于医疗不发达的新疆来说，对血药浓度进行及时监测仍有困难。新疆位于中国西北地区，且在医疗的发展上来说是比较落后的，导致各地区之间医疗水平不同。据了解，在新疆血药浓度监测工作的开展对很多医院来说仍然是很困难的，因此导致许多偏远地区的患者无法及时测得血药浓度，进而导致医护人员无法及时调整癫痫患者的服用剂量以及用药周期，最终导致无法优化抗癫痫药物治疗方案，因此对新疆癫痫患儿服用抗癫痫药物后血药浓度预测十分重要。目前研究学者所用到的血药浓度预测模型主要有群体药代动力学、灰色模型、人工神经网络、生理药动学模型、支持向量机回归预测模型、蒙特卡洛预测模型、决策树模型、小波神经网络模型等，每种预测模型都有各自的优缺点。

在预测血药浓度的研究中，国内外学者利用了不同的浓度预测模型对血药浓度进行了预测。李龙艳^[21]等人预测了异丙酚的血药浓度，该研究使用了差分进化算法优化多因素灰色模型，预测的结果提示，使用该模型预测准确度高，稳定性好；汤井田等^[22]基于群优化支持向量机模型预测了瑞芬太尼血药浓度，并与非线性混合效应模型的浓度预测结果进行对比，结果显示支持向量机模型的平均相对误差为 9.09%而非线性混合效应模型的预测结果为 19.92%，提示支持向量机模型的预测能力强于非线性混合效应模型。除以上提到的预测模型外，还有应用较为广泛的人工神经网络(Artificial Neural Network, ANN)，Yamanura^[23]等人利用 ANN 和逻辑回归模型预测了氨基糖苷类抗生素的血药浓度，比较两种模型的相关性，ANN 的 $R=0.9862$ ，逻辑回归的 $R=0.8827$ ，提示人工神经网络的预测性能更好；Chow^[24]等人利用 ANN 和非线性混合效应模型分别预测了妥布霉素的血药浓度，并将两种模型的预测结果进行对比，神经网络分析的预测残差与 NONMEM 的预测残差呈正相关。ANN 的平均绝对误差为 33.9% 和 37.3%，平均预测误差为 2.59 和 -5.01%，非线性混合效应模型的值分别为 39.9% 和 17.7%。对比二者结果可看出，ANN 和非线性混合效应模型都可以用于血药浓度预测，但 ANN 的预测结果更为准确。Chen^[25]等人预测了肝移植患者的他克莫司血药浓度，该研究将患者分为建模组与模型验证组两组，采用反向传播神经网络并结合遗传算法进行预测，结果表明，使用反向传播神经网络并结合遗传算法预测血药浓度的方法是可行的，其预测浓度的结果与实测浓度的结果无太大的差异性。

结合临床资料以及国内外文献报道可知，血药浓度影响因素较多，并且血药浓度与其影响因素中大多为非线性的关系，因此利用传统药物动力学法构建的模型预测血药浓度变得比较困难，血药浓度预测模型的选择需要根据数据的类型、样本量的大小、变量之间的关系（如线性关系或非线性关系）等因素综合判断。根据国内外学者研究发现，利用 ANN 构建模型预测血药浓度可以得出较为准确的结果，并且在众多预测模型中 ANN 与其他模型相比具有特有的优势^[26-29]，并且已在血药浓度预测方面取得了初步的应用成果。ANN 是从信息传递的角度模拟人类的神经网络，将现有的信息以不同的方式形成不同的网络，ANN 具有在高维中建立非线性关系的能力，它能够预测变量之间的复杂关系，在预测建模领域中变得越来越重要^[26]，其中遗传-反向（genetic algorithm - backpropagation, GA - BP）传播神经网络已广泛用于血药浓度预测。目前 ANN 的结构有三层，包括输入层、隐含层、输出层，三层结构各司其职，根据其特性最终形成一个较好的预测模型。

在本研究中，选择了预测精度高，运算速度快、自动化程度高且能够处理非线性关系的 GA - BP 神经网络对 LTG 的血药浓度进行预测，初步为需要调整 LTG 剂量或无法监测 LTG 血药浓度水平的患儿提供浓度预测，在临床中根据患儿情况制定给药方案。

第 1 章 拉莫三嗪治疗癫痫的研究进展

对于癫痫这种慢性疾病通常需要进行长期的治疗，而癫痫现已成为我国较为常见的神经系统类疾病，在我国已有近千万的癫痫患者，并且患病人数正每年 40 万的速度递加^[30]，查阅流行病学资料发现，在全国患有癫痫的人群当中，儿童的占比约为 2.98%~8.80%，并且 60% 起源于婴幼儿时期，一般男性多于女性^[31]，我国调查发现儿童发病率占总体患病人群的 4 倍^[32]。在治疗癫痫的药物当中，LTG 属于新型的抗癫痫药物，已用于治疗癫痫超过二十年，具有抗癫痫谱广、不良反应少，耐受性和安全性等优点。LTG 治疗癫痫的疗效已得到广泛的验证，在单药治疗癫痫患者方面具有应用前景，其不良反应发生率相对较低，严重不良反应罕见。

1.1 癫痫的分类

根据 2017 年发布的 ILAE^[33]，可将癫痫分为局灶性起始发作、全面性起始发作和未知起始发作三大类。在①局灶性起始发作中可根据知觉清醒/损害细分为局灶性知觉清醒/损害发作；在②全面性起始发作中可细分为运动性（如全面性强直-阵挛发作）和其他运动型（如全面性痫性痉挛）；在③未知起始发作中可细分为运动型（如未知起始强直-阵挛发作）、其他运动型（如未知起始痫性痉挛）和非运动型。对临床医生来说，分类越明确，便可以对患者进行更精确的治疗，选择更准确的给药方法，使患者得到有效的治疗。

1.2 拉莫三嗪治疗癫痫机制

当今在病理生理学和分子生物学方面的研究表明，参与癫痫发展的信号通路是广泛和异质的，说明在对癫痫的治疗中可能有其他潜在的治疗方法，其中有：终止炎症反应的发生、对黄体酮的应用、环氧酶 2 抑制剂、干细胞的移植、雷帕霉素抑制 mTOR 通路等治疗方法。

对 LTG 的作用机制已经有了清楚的研究，LTG 选择性作用于电压敏感的IIa 钠通道^[34]，当患者处于正常情况时：钠通道在产生动作电位开放导致去极化，然后在通道关闭和复极化之前有 12 ms 的失活期；当患者处于病理情况时：钠通道失活时间在原先 12ms 的基础上延长了 7~8 ms，而这一过程也使复极化时间延长，细胞兴奋性增加。LTG 可以稳定神经细胞膜，使钠通道失活时间进一步延长至 100~800 ms，延长不应期进而使得

后续的放电不再发生，LTG 还可以抑制兴奋性神经递质谷氨酰、天冬胺酸的释放，阻断高压激活的钙电流^[35-36]，阻断超极化激活的内向电流^[37]；阻断钾电流；阻断烟碱受体通道^[38]而产生抗癫痫作用。LTG 有一个明显的特性是该药具有有较弱的选择性，因此此药对患者正常的神经生理活动影响不大。

1.3 拉莫三嗪的药代动力学

1.3.1 吸收

LTG 口服后迅速吸收，其达到峰值浓度的时间是 2.5 小时，LTG 无首过效应，生物利用度在 98%^[39]，且生物利用度不受饮食的影响。健康的成年人 (>18 岁) 在服用 LTG 单药 400mg~500mg 之后，LTG 的峰浓度随着剂量的增加而直线上升，并且到达峰浓度的时间与剂量无关；可能是受到肝肠循环的影响^[40]，在用药后可能会有双峰出现。

1.3.2 分布

LTG 与血浆蛋白的结合率大约为 55%，并且它从血浆蛋白置换出来引起毒性反应的可能性也是较低的，其在体内的分布容积为 0.92~1.22L/kg^[41]。LTG 的分布范围较为广泛，并且它的服用剂量不会影响到分布。

1.3.3 代谢

LTG 进入体内不经 I 相酶细胞色素 P450 酶代谢，而 II 相酶尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 (UGTs) 已被证实是 LTG 的代谢酶^[42]。该药物的轻度诱导自身代谢是由其剂量决定的，虽然 LTG 与细胞色素 P450 酶代谢的药物之间不大可能发生相互作用，但合用药物依然会影响 LTG 的半衰期，研究提示^[41]当 LTG 与葡萄糖醛酸化诱导剂 (如卡马西平、苯妥英) 合用时，平均半衰期缩短大约 14 个小时；当 LTG 单独与丙戊酸钠合用时，平均半衰期增加大约 70 小时。

1.3.4 排泄

LTG 主要代谢物为葡萄糖醛酸结合物，主要随尿液排出，以原形的形式排出的量不到 10%；次要排泄方式为随粪便排出，粪便中排出的与药物有关的物质仅约 2%。但儿童与成人有所不同，不同发育阶段的有不同的特殊性，①对于新生儿和小婴儿来说：这类群体的肝脏、肾脏发育不成熟，从而导致其代谢能力和排泄能力差，使得药物在体内存留时间延长，最终造成蓄积超过正常浓度而中毒；②对于婴幼儿至学龄前期的患儿来说：该类群体与第一类群体不同的是药物在体内的代谢速率快，半衰期短；③对于学龄

前期和学龄期的患儿来说：这个年龄阶段一般为儿童大脑发育的高峰期，若用药不适当容易造成大脑功能受到损伤；④对于青春前期和青春期的患儿来说：该类群体正处于身体生长发育期，所以使用药物时要考虑到药物对发育的影响。一项研究表明^[43]，LTG 的清除率最高值的年龄范围为：< 5 岁；而 < 12 岁的癫痫患儿的清除率高于成年癫痫患者的清除率。另外还有文献报道^[7]，7~18 年龄组患儿 LTG 给药剂量和血药浓度成正相关，但 3~7 岁年龄组患者给药剂量和血药浓度则无相关性。

1.4 拉莫三嗪治疗成人的研究现状

1.4.1 国内现状

1.4.1.1 拉莫三嗪单药治疗

在癫痫的单药治疗中，刘佳^[44]等人选择 98 名癫痫患者分为对照组和观察组两组，每组各 49 名作为研究对象。两组患者进行不同药物的治疗，观察组癫痫患者使用 LTG 进行治疗，对照组癫痫患者使用 VPA 进行治疗。对治疗疗效的评判以：发作频率、发生的不良反应来评判，将两组的结果进行比较，最终发现癫痫患者使用 LTG 后的癫痫发作频率和不良反应的发生率是显著低于使用 VPA 治疗的，说明 LTG 的治疗是有效的。盛怀龙^[45]等人的研究方法与刘佳^[44]等人的一致，该研究 118 名癫痫患者随机分为①对照组：使用 VPA 治疗，②观察组：使用 LTG 治疗，该研究所得的结论与刘佳^[44]一致，对不同药物获得的治疗效果的统计表明，在癫痫患者中应用 LTG 可以有效地控制癫痫发作，而且不良反应比丙戊酸钠少。李昌^[46]等人，将 72 例部分性癫痫发作患者随机分为两组，治疗组服用 LTG，对照组服用 CMZ，对比两组药物的治疗疗效来评价 LTG 治疗成人部分性癫痫发作的临床疗效，结果两组疗效比较无差异，但使用 LTG 治疗后的癫痫患者脑电图好转率明显高于 CMZ 治疗组，并且不良反应也相对较少。在 LTG 的单药治疗中，其不良反应较少，安全性高，治疗效果较好。

1.4.1.2 拉莫三嗪添加治疗

在癫痫治疗的联合用药中，赵新春、裴红霞^[47-48]等人观察单独使用 LTG 以及与其他抗癫痫药物联合使用时治疗癫痫的临床效果，研究将患者分为：①LTG 治疗组；②VPA 治疗组；③LTG 联合 VPA 治疗组，研究结果提示：LTG 单独使用或与 VPA 联合使用具有良好的治疗效果，可以在临床上进行推广使用。LTG 治疗成人难治性部分性癫痫也有良好的疗效。张曙光^[49]等人研究了加用 LTG 治疗成人难治性部分性癫痫的疗效，收集了 62 例患者作为研究对象，其中加用 LTG 前用药情况：VPA 30 例，CMZ+VPA 13 例，VPA+苯巴比妥 7 例，VPA+氯硝安定 9 例，CMZ 3 例，所选取的癫痫患者病程在 2~13

年。研究表明加用 LTG 治疗难治性部分性癫痫后，在收集到的病例中 LTG 的治疗有效率达到 80.00% 以上，显效率超过 50.00%，并且有 24.19% 的患者经过治疗后发作完全停止，这表明，添加 LTG 对治疗难治性部分性癫痫有较好的效果。

1.4.2 国外现状

Tanvir U Syed^[50]等的研究表明 LTG 可以最大限度地降低血清浓度，这可能会减轻病人的负担，并且最大限度地提高治疗的依从性。Rong Li^[51]等人比较了 OXC、LTG 和 LEV 三种药物单药治疗新诊断的局灶性癫痫患者的长期疗效、耐受性和安全性。结果提示 LEV 和 LTG 在治疗新诊断的局灶性癫痫方面比 OXC 显著有效。

不论是单药还是联合用药治疗癫痫，LTG 均表现出较好疗效和安全性，且相对于其他抗癫痫药物具有较少的不良反应，可广泛应用在临床治疗癫痫当中。

1.5 拉莫三嗪治疗儿童的研究现状

1.5.1 国内现状

1.5.1.1 拉莫三嗪单药治疗

在治疗小儿失神癫痫方面，袁强^[52]等人对 LTG 单药治疗小儿失神癫痫的效果进行了分析，该研究回顾性分析了 50 名小儿失神癫痫临床资料，给予全部癫痫患儿 LTG 单药治疗，结果提示在 50 例患儿中，有 24 例患儿达到治愈的效果，治疗显效的癫痫患儿有 13 例，但遗憾的是治疗无效的患儿也有 13 例，总体治疗有效率达到了 74.0%，该研究表明 LTG 的单一疗法治疗小儿失神癫痫来说是安全的、有效的。除此之外，田怀平^[53]等人通过查阅数据库，研究共收集 LTG 治疗儿童及青少年失神性癫痫的临床试验资料 721 例，纳入了 7 项研究，对 LTG 治疗儿童及青少年失神性癫痫的疗效和安全性进行了系统性评价。分析结果显示：LTG 单药的治疗疗效比 VPA 和 ESM 的疗效弱，但强于安慰剂；对比不良反应的发生率发现，LTG 与 VPA/ESM 的不良反应发生率无显著性差异，结果表明用 LTG 单药治疗儿童和青少年失神性癫痫有效且耐受性良好。刘砚韬^[54]等人系统评价 LTG 单药治疗儿童癫痫的有效性和安全性，通过检索 PubMed、Cochrane 图书馆、CNKI、VIP、CBM、万方等中英文数据库，共纳入 9 个 RCTs (1016 例)。研究结果为：LTG 的癫痫发作完全控制率明显低于 ESM，与 CMZ 和 VPA 的差异均无统计学意义；在不良反应发生率方面与 VPA 和 ESM 的差异均无统计学意义，但与 CMZ 相比较是明显低的；比较 LTG 与其他 3 种抗癫痫药物的服药退出率，发现结果无统计学差异，提示 LTG 可作为传统 AEDs 治疗无效、不良反应明显患儿的替代治疗癫痫的药物。

1.5.1.2 拉莫三嗪联合治疗

田怀平^[55]等人通过检索数据库和中国期刊全文数据库将检索的结果分为实验组和对照组，实验组为 LTG 联合其他 AEDs 治疗；对照组分为 LTG 治疗或其他 AED 单药治疗，最终纳入 5 项研究，375 例患儿进行 Meta 分析后发现对于癫痫患儿的治疗方案选择 LTG 添加治疗，其疗效确切，并且耐受性较好，对比其他 AEDs 拉莫三嗪也有一定的优势。

1.5.2 国外现状

在国外 LTG 单药治疗儿童癫痫中，Ignacio Valencia^[56] 等发现 LTG 治疗青少年的局灶性和全身性癫痫有效且耐受良好。同时，Yun Jung Hur^[57]等人比较了 OXC 和 LTG 单药治疗小儿局灶性癫痫的疗效，小儿癫痫患者中共有 116 例患者接受了 LTG (n = 43) 或 OXC (n = 73) 单药治疗。评价 OXC 与 LTG 治疗后的临床特征，癫痫发作结局，停药原因，保留率和不良反应这 5 种指标，对比两种药物的指标后可知：①在超过 12 个月的癫痫治疗当中，LTG 的治疗疗效是优于 OXC 的；②在停药方面，两种药物的表现无显著性差异；③在保留率方面，两种药物结果相似；④在不良反应的发生率方面，两种药物的发生率相似，结果无显著性差异。最终得出的结论是 LTG 在治疗小儿局灶性癫痫方面更有效，优于 OXC 单药治疗。

SawaYasumoto^[58]等发现 LTG 单一疗法在典型的失神发作的日本和韩国儿科患者中是有效的且通常耐受性良好。Jing Cao^[59]等人系统回顾和随机对照试验的荟萃分析系统地探讨了 LTG 治疗儿童和青少年失神发作的有效性和安全性，该研究检索 Pubmed、Embase、Cochrane、万方、CNKI 等数据库。考虑了将 LTG 与其他药物和/或安慰剂治疗儿童和青少年失神发作的对照实验，结果提示 LTG 的疗效不及 VPA 和 ESM，但是，基于其相对安全性，LTG 可以合理地尝试作为有可能受到 VPA 和 ESM 重大不利影响风险的儿童和青少年的初始疗法。

Nolan SJ^[60]等人比较了比较了单用 CMZ 或 LTG 治疗儿童或成人部分发作或全身性强直阵挛发作的疗效，纳入了 13 项研究，共有 2572 名参与者，比较结果发现 LTG 比 CMZ 的撤药可能性要低得多。

结合国内外文献报道发现，LTG 在治疗儿童癫痫时，其安全性、有效性与其它抗癫痫药物没有明显的差异，但患儿用药时不仅仅只考虑药物的安全性有效性等，还要考虑到长期用药以及不良反应的发生率等方面，LTG 相对于其他抗癫痫药物治疗儿童癫痫是具有一定的优势的。

1.6 拉莫三嗪治疗癫痫的使用剂量

1.6.1 拉莫三嗪单药治疗

查阅 LTG 药品说明书^[61],在 LTG 的单药治疗中说明书仅批准年龄大于 12 岁的儿童或成年人方可使用,其使用剂量及剂量调整如下描述:

1.6.1.1 初始剂量

在 LTG 单药治疗癫痫时,初始剂量为 25 mg,在第 1~2 周时均为 25 mg,每天服用一次。

1.6.1.2 第 3~4 周时的服用剂量

在服用 LTG 治疗时间到第三周开始,对药物的剂量进行加量,由原来的 25 mg/日增加至 50 mg/日,最大增量为 50-100 mg,当达到最佳疗效时停止加量。

1.6.1.3 第 5 周及以后的服用剂量

在第 3~4 周的维持剂量的基础上,每 1~2 周增加 LTG 的使用剂量 50~100 mg/d,给药次数分为一天一次或一天两次,按照患者具体情况判断。依据说明书 LTG 单药治疗时当维持剂量在 100~200 mg/d 时,其治疗疗效可以达到最佳的效果,但也不排除个体差异性,也个别患者服用药物剂量达到 500mg 时治疗效果才最好。

1.6.2 拉莫三嗪联合用药治疗

1.6.2.1 拉莫三嗪联合用药治疗 12 岁以上的儿童及成人患者的用法用量

将 LTG 合用药物治疗 12 岁以上的患者的治疗剂量以及剂量递增方法总结为图 1-1。对于 LTG+酶抑制剂以及 LTG+酶诱导剂的相关内容已在绪论中已介绍过,在此就不多加赘述了。

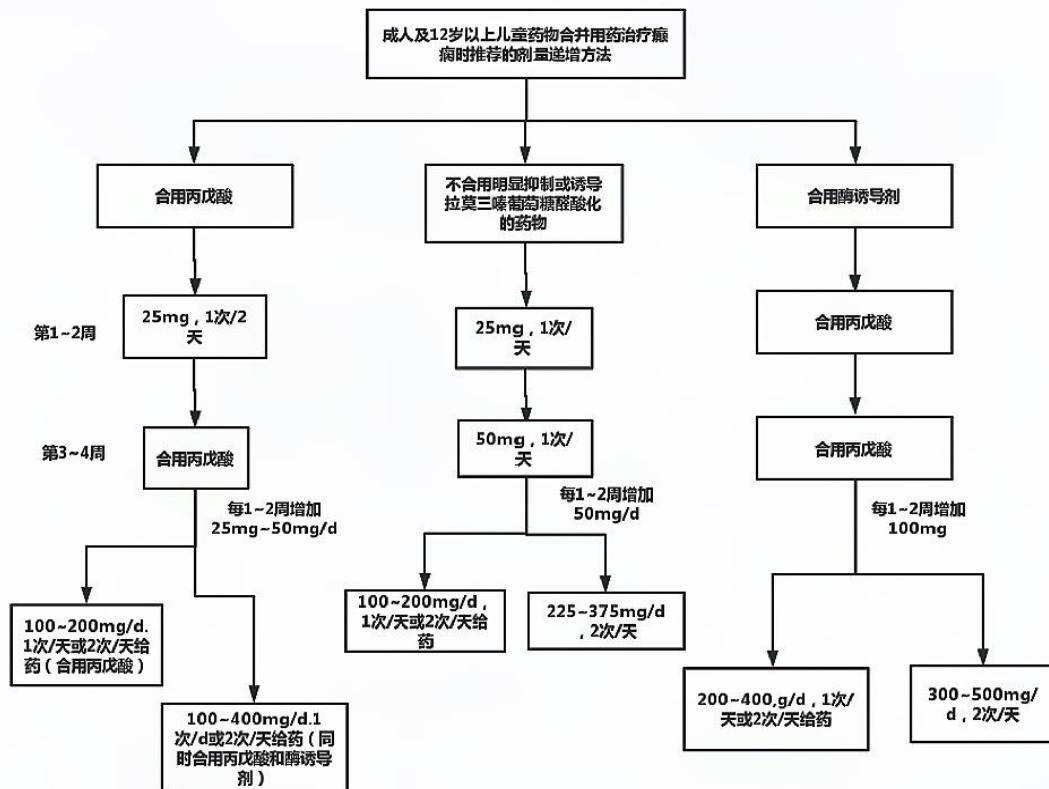


图 1-1 拉莫三嗪联合用药治疗 12 岁以上的儿童及成人患者的用法用量

Figure 1-1 Lamotrigine combination therapy dosage for paediatric and adult patients over 12 years of age

1.6.2.2 拉莫三嗪治疗年龄在 2~12 岁的儿童时的用法用量

对于年龄范围在 2~12 岁的癫痫患儿，一般使用 LTG 合并其他抗癫痫药物治疗的手段，对于此类患儿一般是根据其公斤体重数来进行给药。开始添加 LTG 时，计算方法为 0.3 mg/kg ，一日两次，根据该剂量连续服用两周；在随后的两周以 0.6 mg/kg ，一日两次来服用；在第五周及以后每 1~2 周加量一次，最大加量 1.2 mg/kg ，直到达到 $2.5\sim 7.5 \text{ mg/kg}$ 。在患儿服用 LTG 时如果根据公斤体重数计算出的剂量不为整片剂量，则取最低限的整片来服用。

1.7 拉莫三嗪所致不良反应

1.7.1 常见的不良反应

AEDs 类药物在临床上治疗疾病时，常会引起患者发生不良反应，影响轻微的不做处理，当不良反应对患者造成中等程度的影响时（如影响患者正常生活等）临床医生可能会做减量或换药处理，当不良反应对患者造成严重影响时，一般会立即停用该类药物

并到医院进行处理。同样的 LTG 在临床治疗疾病时常会发生一些不良反应，在 LTG 可能会诱发的所有不良反应中最为常见的有以下几种：包括神经系统的异常、皮肤和皮下组织病变、精神系统异常、胃肠道异常及其他相关系统症状^[62]，在所发生的不良反应中，皮疹发生率最高，约为 10%，重症药疹发生率约为 0.1%^[63]。

在 LTG 所导致不良反应中，最常见的为的皮肤损伤，主要包括：皮疹、单纯麻疹型、药疹、过敏反应，其他不良反应包括：白细胞减少、头痛、共济失调、呕吐、头晕、血小板减少等^[64]，严重的不良反应有可能诱发罕见的（>0.01% 且 < 0.10%）史-约综合征（Stevens-Johnson syndrome）。并且在 2018 年时，美国 FDA 发出警告^[65]，指出 LTG 在使用过程中存在严重的安全性风险。

1.7.2 不良反应的防治

（1）预防：有研究表明^[66]服用 AEDs 后所产生的皮肤不良反应可能是由等位基因 HLA-B*15:02 造成的，而与抗癫痫药物引起的 Stevens-Johnson 综合征高度相关的基因为 HLA-A*24:02、HLA-B*15:02^[67-68]，所以在患者服用癫痫药物前建议患者进行相关基因检测。

（2）对症治疗：主要包括皮质激素；维持酸、电解质、水、碱平衡；静脉滴注免疫球蛋白针；加强支持疗法；慎重选用抗感染药物；维持有效的循环血容量；对有症状的皮肤进行局部治疗^[69]。

1.8 总结与展望

LTG 是一种新型的抗癫痫药物，自从 2005 年在国内上市后不论单药或添加治疗都广泛运用于成人或儿童癫痫，其在难治性部分性癫痫、小儿失神癫痫、青少年的局灶性和全身性癫痫、儿童或成人部分发作或全身性强直阵挛发作等的治疗中都有良好的效果。在 LTG 的应用当中，其不良反应的发生率相较于其他 AEDs 是较低的，期待在临床治疗过程中将 LTG 广泛的应用在癫痫的治疗当中。

第 2 章 拉莫三嗪血药浓度测定方法学建立

本研究在课题组前期研究的基础上建立了一种超高效液相色谱法测定新疆癫痫患儿体内 LTG 药物浓度的方法^[70]，应用于癫痫患儿的个体化治疗。目前血药浓度的检测方法有很多，最常用的有光谱法、色谱法、免疫法^[20]三大类。与其他两种方法相比较，本研究采用的超高效液相色谱法是目前发展最快、适用性最强的一种方法，这类方法重现性好、准确度高、特异性好、方法新颖^[71]，UPLC 法已广泛运用在生物工程、医药行业、食品卫生等领域。

根据 LTG 在癫痫儿童体内的代动力学特点，有必要对服用 LTG 的癫痫患儿进行血药浓度监测，但经过各学者的研究临床目前仍然没有一个确切的浓度范围，参考国内外学者研究，国外研究^[72]提出 LTG 治疗浓度范围为 2.5~15 $\mu\text{g/mL}$ ，国内有学者^[73]通过 HPLC 法测定癫痫患者服用 LTG 后的浓度发现其有效治疗浓度范围为 0.5~20 $\mu\text{g/mL}$ ，本研究采用 UPLC 法对 LTG 血药浓度进行测定，以 2.5~15 $\mu\text{g/mL}$ 为参考，在优化课题组之前的测定血药浓度的方法的前提下，将该方法应用在临床上，考察适合新疆癫痫患儿 LTG 的有效治疗浓度范围。

2.1 仪器与试剂

仪器：5430R 型低温冷冻离心机（德国艾本德公司）；FJY1002 - UVF 基因研究型超纯水机（青岛富勒姆公司）；称量天平（德国赛多利斯公司，批号：BP221S）；超高效液相色谱仪（美国沃特斯公司）；血清样本前处理蛋白沉淀剂（美国雅培公司，批号：308820）；试剂：乙腈、甲醇为色谱纯；LTG 对照品（纯度： $\geq 98\%$ ，批号：QA/LBF/30，购自中国药品生物制品检定所）。

2.1.1 色谱条件

色谱条件 色谱柱：Waters ACQUITY UPLC BEH C18 柱（2.1 mm \times 50.0 mm, 1.7 μm ）。流动相：选取乙腈-乙酸铵溶液（10 mmol/L，用甲酸调 pH 至 4.1）=20:80，检测波长：240 nm，柱温：30 $^{\circ}\text{C}$ ，流速：0.2 mL/min，进样量：2 μL 。

2.1.2 对照品溶液的配制

精密称取 LTG 对照品 10 mg，放置于 10 mL 容量瓶中，加甲醇将其溶解，定容至刻度线，振摇均匀，即得浓度为 1 mg/mL 拉莫三嗪储备液，保存于 4 °C 冰箱。

2.1.3 标准血清样本配制

将先前配置好浓度为 1 mg / mL 的 LTG 对照品储备溶液取出，在 180 μ L 的空白血清当中加入 20 μ L 的 LTG 对照品溶液，加入后将溶液涡旋混匀 30 s，用甲醇逐级稀释为含 LTG 的对照品溶液，即可得到含 LTG 浓度分别为 25、100、200 μ g / mL 的 3 个浓度级别的系列对照品工作溶液。所有溶液均在 4 °C 下储存，以便进行平衡，然后根据需要取样，取样结束后存储在 -20 °C 冰箱，以便进一步分析。

2.1.4 流动相的配置

精密称取乙酸铵 7.71 mg，置于 1000 mL 容量瓶中加水溶解，移液管精密加入 385 μ L 甲酸，定容，混匀，0.45 μ m 滤膜过滤。

2.1.5 血样处理方法

精密吸取血清样本 100 μ L，置于 1.5 mL 聚乙烯离心管中，精密加入蛋白沉淀剂 200 μ L，涡旋震荡 90 s，低温高速离心（12000 r / min，10 min），取上清液，通过 0.22 μ m 的针头过滤，注入瓶中并插管后进样。

2.2 方法学考察

2.2.1 专属性

提供空白生物样品色谱图、空白生物样品外加 LTG 标准物质的色谱图以及用药后的生物样品色谱图，见图 2-1 至 2-3，分别代表空白血清色谱图、LTG 标准品色谱图、用药后典型血清样本的色谱图，由图可知，血清中内源性物质不干扰 LTG 的测定。

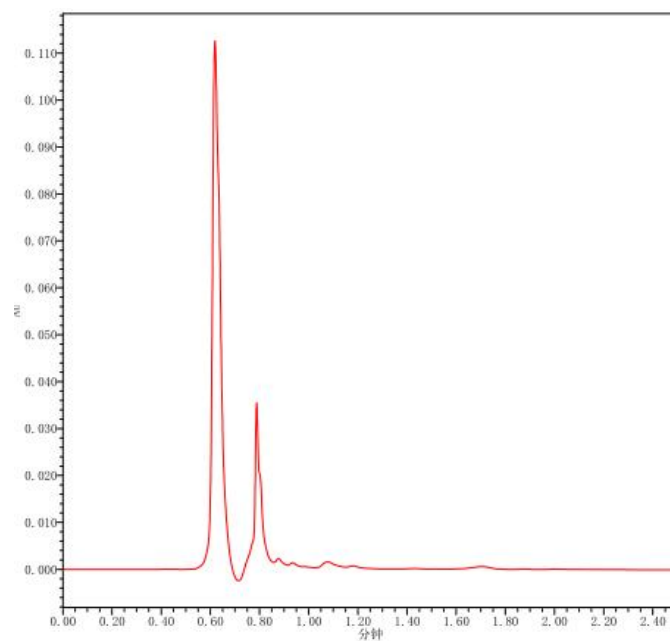


图 2-1 空白血清色谱图

Figure 2-1 blank serum

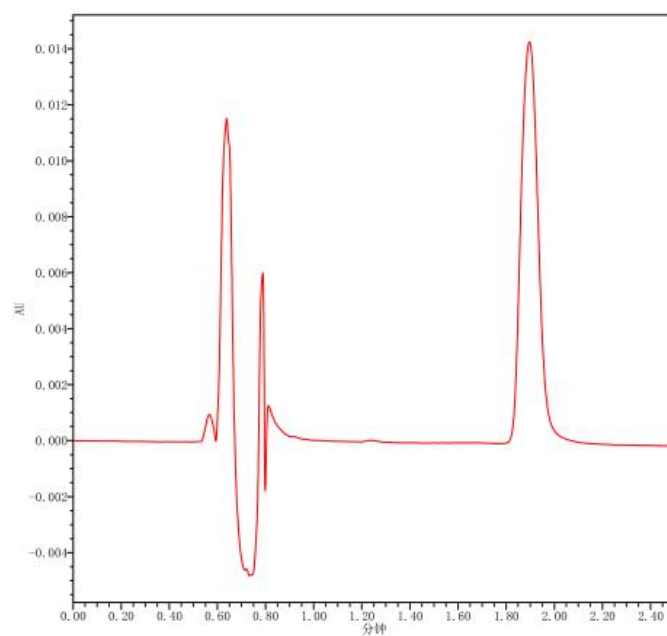


图 2-2 拉莫三嗪标准品

Figure 2-2 lamotrigine standard

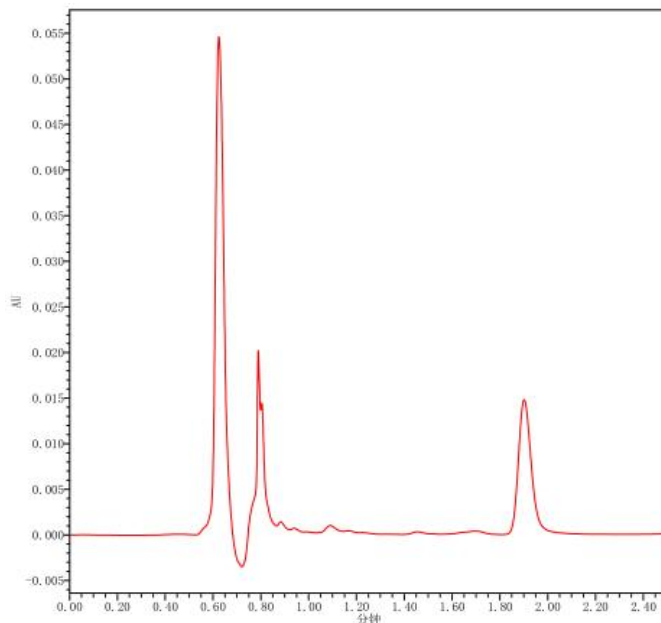


图 2-3 用药物后的典型血清样本

Figure 2-3 typical serum sample after drug administration

2.2.2 标准曲线与线性范围

配制至少 6 个浓度系列质量浓度 (2.5, 5.0, 10.0, 20.0, 30.0 和 40.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的标准血清样品, 经“2.1.3”项下方法进行处理, 将配置好的标准血清样品进样分析, 记录色谱图, 做标准曲线见图 2-4。

LTG 的保留时间为 1.91min。以 LTG 的峰面积为因变量 (y), 浓度为自变量 (x), 进行线性回归, 得回归方程: $Y=6506X-5236.6$, $r=0.9998$ 。该药物的定量限为 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 最低检测限为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。根据本研究的结果可知: LTG 在 2.5~40.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内线性关系良好。

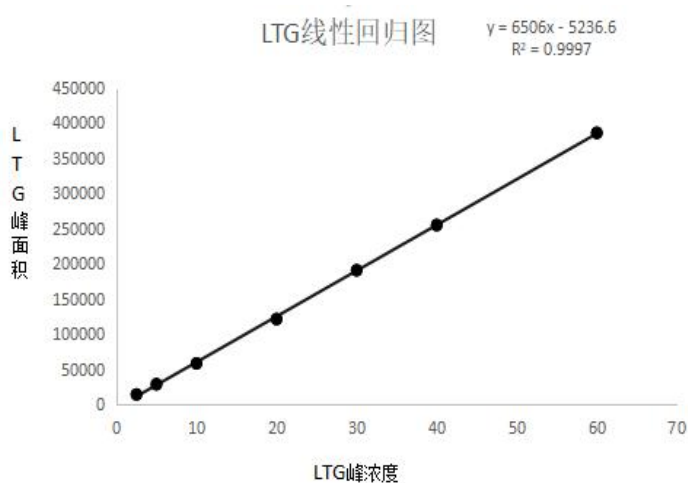


图 2-4 拉莫三嗪线性回归图

Figure 2-4 Linear regression plot of lamotrigine

2.2.3 方法精密度和准确度

分别配制含 LTG 低 (2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、中 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、高 (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 三个浓度的标准血清样本, 将低、中、高三个浓度平行制备 5 份, 并且将制备好的样本按照“2.1.3”项方法处理, 进样测定, 计算不同浓度下的准确度及精密度, 考察样本在 3 天的日内和日间精密度, 结果见表 2-1。进行精密度和准确度验证, 精密度用质控样品的批内和批间相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 表示。评判准确度用测得的样品浓度与真实浓度的接近程度来表示。结果显示: LTG 低、中、高三个浓度的准确度符合药典规定, 由表 2-1 可看出日内和日间准确度在 97.80%~104.68%, 精密度在 0.58%~1.56%, RSD 均小于 15%。

表 2-1 拉莫三嗪的日内 (n=5)、日间 (n=3) 精密度和准确度

Table 2-1 Intraday (n=5) and interday (n=5) precision and accuracy of lamotrigine

样品浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	日内			日间		
	测得浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	准确度 (%)	RSD (%)	测得浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	准确度 (%)	RSD (%)
2.5	2.59 \pm 0.019	103.67	0.72	2.64 \pm 0.015	104.68	0.58
10	9.94 \pm 0.15	99.40	1.54	9.78 \pm 0.15	97.80	1.56
20	19.96 \pm 0.28	99.80	1.38	19.675 \pm 0.12	98.76	0.60

2.2.4 样品的稳定性

(1) 样本室温放置试验

分别配制含 LTG 低 (2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、中 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、高 (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 三个浓度的标准血清样本, 于①室温条件下、②4 $^{\circ}\text{C}$ 环境下放置 24h、③-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存 30 天, 处理后进样分析, 计算 LTG 的浓度。

(2) 样本冻融试验

于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻 24 h 后在室温下放置, 使其自然融解, 三个浓度各取 3 份处理后进样分析, 计算 LTG 的浓度。将剩余的样本再次置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内冷冻 24 h, 然后再次取出融解并处理后进样分析, 如此反复冻融 2 次, 最后计算 LTG 的浓度。

样本的放置试验和冻融试验结果见表 2-2。结果表明: LTG 血清样本在室温条件下可保存 3 小时, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下可以保存 24h, 在-20 $^{\circ}\text{C}$ 下保存 30 天, 误差均在 $\pm 15\%$ 以内; 经过冻融循环 (每个循环 24 小时) 后, 都没有出现显著降解。

表 2-2 拉莫三嗪血清样本稳定性试验

Table 2-2 Stability testing of lamotrigine serum samples

LTG 浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	室温条件下		4°C条件下		-20°C条件下		反复冻融	
	$\bar{x}\pm\text{SD}$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	RSD (%)	$\bar{x}\pm\text{SD}$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	RSD (%)	$\bar{x}\pm\text{SD}$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	RSD (%)	$\bar{x}\pm\text{SD}$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	RSD (%)
2.50	2.59 \pm 0.01	0.46	2.61 \pm 0.01	0.24	2.60 \pm 0.03	1.28	2.59 \pm 0.02	0.78
10.00	10.11 \pm 0.17	1.68	10.44 \pm 0.20	1.88	9.63 \pm 0.11	1.17	9.80 \pm 0.07	0.76
20.00	19.91 \pm 0.28	1.38	20.36 \pm 0.31	1.53	19.69 \pm 0.33	1.67	19.52 \pm 0.10	0.51
平均值		1.17		1.22		1.37		0.68

2.2.5 提取回收率

分别配制含 LTG 低 (2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、中 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、高 (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 三个浓度的标准血清样本, 按“2.1.3”项下方法处理后进样, 得到 LTG 峰面积 A1。另取 1.5 mL 聚乙烯离心管数支, 以水代替血清, 配制含 LTG 低 (2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、中 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、高 (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 三个浓度的对照品样本, 将上述对照品样本处理后进样, 每个浓度平行制备 3 份, 得到 LTG 峰面积 A1'。标准血清样本中 LTG 的提取回收率为 $R1\% = A1/A1' \times 100\%$, 结果见表 2-3。

结果表明: 三个浓度水平的提取回收率中, 其 RSD 值均符合药典规定。

表 2-3 拉莫三嗪的提取回收率 (n=3)

Table 2-3 Extraction recoveries of lamotrigine (n=3)

浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	回收率 ($\bar{x}\pm\text{SD}$) (%)	RSD (%)
低 (2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	103.70 \pm 3.47	3.35
中 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	97.98 \pm 3.66	3.74
高 (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	99.42 \pm 1.49	1.50

2.3 讨论

随着科技的发展, 测定血药浓度的方法也越来越多, 常用的检测血药浓度的方法中光谱法干扰因素多, 专属性差并且在测定时需要大量的样本, 在实际应用中普及范围小; 免疫法虽然分析周期短自动化程度高, 但相应的试剂盒以及仪器的价格昂贵, 考虑到价格原因该方法在实际应用中并不普遍; 而本研究采用的 UPLC 法灵敏度高, 专属性强, 操作简便, 常常使用更短的时间测定更多的样品^[74]。在本研究中为了提高分析对象的分离效率, 选择 UPLC 法可以使分析速度快, 达到高的检测灵敏度, 实现操作自动化而且

选择性好及应用范围广，因此，为了测定 LTG 的血药浓度，选择了超高效液相色谱法。其次对溶剂进行选择，查阅资料了解到 LTG 的性质，LTG 几乎不溶于水和石油醚，微溶于氯仿，易溶于甲醇，乙醇，丙酮，热乙醇等有机溶剂，但由于氯仿，丙酮等有机溶剂溶解非极性的杂质较多，且毒性较甲醇大，为了提高分析对象的准确度，本研究以甲醇为溶解溶剂。检测波长的选择，本研究在课题组前期研究的基础上通过紫外分光光度法检测，检测范围选择 190~400nm，在此范围内进行扫描，发现拉莫三嗪在 240nm 处有最大吸收波长，最终确定检测波长为 240nm。最后，对流动相比例进行了选择，在本研究中通过不断改变乙腈-乙酸铵溶液配比，通过对比不同配比的流动相的峰型最终以乙腈-乙酸铵溶液（10 m mol/L，用甲酸调 pH 至 4.1）=20:80 的峰型最佳，洗脱方法选择等度洗脱，流速定为 0.2mL/min，在此条件下，可用于 LTG 血药浓度测定，其分离效果较佳，峰型较好。

目前有关 LTG 血药浓度与疗效之间的关系仍然不明确，并且也并没有一个明确的 LTG 治疗浓度范围，查阅国内外文献了解到，国外学者 Bentué-Ferrer D^[72]等研究提出 LTG 治疗浓度范围为 2.5~15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，朱永坚^[73]等人通过 HPLC 法测定癫痫患者服用 LTG 后的浓度认为其有效治疗浓度范围为 0.5~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，也有学者^[75]建议 LTG 在添加治疗时的治疗浓度范围为 1~13 mg/L，在治疗儿童时根据儿童药代动力学的特性发现了不同的浓度范围，王环鑫^[38]利用高效液相色谱法测定服用 LTG 的癫痫患者，根据 ROC 曲线评价对比不同年龄组的患者发现，儿童组 LTG 有效血药浓度范围为 3.99~8.97 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，青少年组 LTG 有效血药浓度范围为 2.67~8.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。对于成人组，LTG 血药浓度 >1.88 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 即可获得较稳定的临床疗效，本研究通过 UPLC 仪建立测定 LTG 血药浓度的方法，对服用 LTG 的癫痫患儿进行浓度测定，根据癫痫疗效评判标准对服用药物的患儿的治疗效果进行判定，认为 LTG 的治疗浓度在 2.49~16.45 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，和国外学者 Bentué-Ferrer D^[72]的研究结果接近。

在本研究中利用 UPLC 法检测出 LTG 血药浓度的专属性好，LTG 的检测峰与杂质峰能明显的分离开；本研究方法学的精密度、准确度、稳定性以及提取回收率的检验中，检测指标均符合药典规定，即本研究选用的 UPLC 法可以检测 LTG 的血药浓度。

第3章 拉莫三嗪在癫痫患儿中血药浓度相关影响因素分析

LTG 是治疗癫痫的常用药物之一，选择性作用于电压敏感的II a 钠通道阻断烟碱受体通道^[76]而产生抗癫痫作用，该药不良反应少，具有较高的安全性，但在服用过程中个体间差异很大^[9]，并且其在成人与儿童体内的药代动力学是不同的，LTG 在治疗儿童癫痫时要考虑患儿的年龄、发作的类型、是否有合并用药以及患儿的服药剂量等因素^[10]，因此需要监测患儿服用 LTG 后的血药浓度。本研究探讨癫痫患儿的基本信息对服用 LTG 后血药浓度的影响。

本研究收集 300 例年龄在 0~16 岁的规律服用 LTG 的新疆癫痫患儿并要求患儿的血药浓度达到稳态，在收集过程中记录患儿年龄、性别、族别、身高、体重、给药剂量、合并用药、血常规、肝肾功等基本信息。探讨以上信息对服用 LTG 后患儿的血药浓度的影响，为第三章影响血药浓度因素的选取提供参考。

3.1 数据收集

3.1.1 受试者选择

收集自治区人民医院 2015 年 10 月-2021 年 10 月就诊的规律服用 LTG 15 天以上的住院及门诊癫痫患儿病例总计 300 例，抽取总人数的 20%作为模型验证组，即 240 例为建模组，60 例为模型验证组。研究数据收集：对患者的基本信息进行收集：包括性别、族别、年龄、身高、体重、BMI；生化指标：红细胞计数、尿素氮、血小板计数、白蛋白、中性粒细胞百分比、血红蛋白、 γ -谷氨酰转肽酶、球蛋白、淋巴细胞百分比、白细胞计数、肌酐、谷草转氨酶、谷丙转氨酶、总蛋白；用药情况：给药剂量、合并用药、LTG 血药浓度等生理病理学指标。患儿均服用 LTG 片（规格：每片 50 mg，Glaxo Smith Kline Pharmaceuticals S.A.公司生产），某些患儿在治疗期间合并服用左乙拉西坦、卡马西平等其他抗癫痫药物。

3.1.2 入选标准

(1) 新疆维吾尔自治区人民医院门诊或住院诊断为癫痫的患儿；(2) 年龄范围为 0~16 岁；(3) 在癫痫的治疗过程中只使用 LTG 单药或联合其他 AEDs 治疗，并且患儿的血药浓度达到稳态。

3.1.3 排除标准

(1) 服用药物剂量不明确；(2) 服用药物不规律等不合格的病例。

3.1.4 癫痫定义和判定标准^[76]

本研究所收集的患儿的脑电图检查、临床症状均符合 ILAE 的最新指南中的癫痫诊断。根据国际抗癫痫联盟，癫痫的诊断标准如下：

(1) 至少有两次无诱因的（或反射性的）发作；至少两次无诱因（或反射性）发作，间隔时间大于 24 小时；

(2) 无诱因（或反射性）发作只有一次，但却有进一步发作的可能；

(3) 一次无缘无故的（或反射性的）癫痫发作，并且在今后几年内发生两次无缘无故的发作后，进一步发作的概率与一般复发风险相似。

(4) 诊断为癫痫综合征。

3.1.5 临床疗效观察^[76]

记录患儿服用 LTG 治疗前后三个月的发作情况，根据中华医学会第一届全国癫痫专题学术会议纪要制定的 4 级疗效判定标准评价患儿最后一次随访的发作频次及脑电图变化，将评价后的结果与未使用药物时作对比，以此来评价 LTG 治疗癫痫患儿的疗效。疗效判定标准为：癫痫治疗后控制：指发作频率相对服用 AEDs 之前减少 100%；癫痫治疗显效：指在服用 AEDs 后发作频率在 75%~100%；癫痫治疗有效：指在服用 AEDs 后发作频率在 50%~75%；癫痫治疗无效：指在服用 AEDs 后发作频率在-25%~ 50%；经过治疗后癫痫加重：指在服用 AEDs 后发作频率<-25%。总有效率=（有效+显效+控制）例数/总例数×100%。

3.1.6 癫痫治愈的标准^[76]

如果病人在过去 10 年中没有癫痫发作，并且在过去 5 年中没有服用任何癫痫药物，则认为癫痫已经治愈；或者说癫痫患者通过一定正规、系统的药物医治而癫痫病不再发作，通常能够减药，直到停药，停药以后 3 年内癫痫没有发作，就可以认为癫痫病已治愈。

3.2 数据收集

3.2.1 样本病例数采集

查阅相关文献^[15-16, 77-79]并结合临床经验,我们选择了22个可能影响LTG血药浓度的变量,包括:身高、身体质量指数、白蛋白、谷丙转氨酶、性别、红细胞计数、年龄、淋巴细胞百分比、血红蛋白、体重、总蛋白、族别、血小板计数、谷草转氨酶、尿素氮、肌酐、合并用药、 γ -谷胺酰转肽酶、球蛋白、白细胞计数、中性粒细胞百分比、用药剂量等生理病理学指标。

本研究一共纳入了300例患有癫痫的患儿,根据患儿基本情况对患儿的年龄、性别、民族、合并用药等情况进行分组,具体分组如下:将年龄分为:第一组:0~3岁;第二组3~6岁;第三组:6~16岁,将性别分为男女两组,族别分为:第一组:汉族;第二组:维吾尔族;第三组:回族;第四组:其他民族;根据合并用药情况将患儿分为3组:第1组:LTG单药;第2组:LTG合用葡萄糖醛酸化诱导剂;第3组:LTG合用葡萄糖醛酸化抑制剂。

用 One-Sample Kolmogorov-Smirnov test 考察数据正态性,将年龄、性别、合并用药的给药剂量、浓度剂量比和血药浓度之间进行方差分析,将民族变量的血药浓度之间进行组间比较;对于连续性变量进行多元线性回归分析探讨上述信息对患儿血药浓度的影响。

3.2.2 拉莫三嗪血药浓度测定

所有患儿均遵医嘱规律服用LTG片治疗,针对2岁的患儿进行LTG添加治疗,12岁以上的患儿可单药治疗,添加时0.3mg/kg,一天2次,连用两周,在随后的两周0.6mg/kg,一天两次,随后的1~2周加量1次,最大加量1.2mg/kg,一天两次,直至患儿的服用剂量达到2.5~7.5mg/kg;当患儿合用其他抗癫痫药物时,服用剂量维持在0.5~5mg/kg,直至血药浓度达稳态。

血药浓度监测一般需要在早上服药前0.5h内采血检测当天空腹抽静脉2mL~3mL,采血后立即将血液样本低温(-4℃)离心5min(转速3500r/min),精密量取上层血清100uL,置于离心管中,加入样本前处理蛋白沉淀剂200uL,涡旋混合后低温高速离心。用注射器吸取上清液,经0.22um针头式过滤器过滤后,注入进样瓶内插管中,按第2章中“2.1.5”项下方法处理,并根据回归方程 $Y=6506X-5236.6$ 计算LTG稳态血药浓度。

3.2.3 临床资料

本研究共纳入300例癫痫患儿,其中男性患儿166例,女性患儿134例,年龄(8.49

± 4.01) 岁, 体重 (32.01± 17.91) kg, 身高 (31.19 ± 25.82) cm, 具体患者资料见表 3-1。

表 3-1 患儿基本资料 (n=300)

Table 3-1 Basic information about the child (n=300)

项目	$\bar{x} \pm SD$
性别 (男/女)	166/134
年龄	8.49 ± 4.01
族别 (汉/维/回/其他)	229/54/11/6
身高/ cm	131.19 ± 25.82
体重/Kg	32.01 ± 17.91
BMI	17.40 ± 3.78
剂量/ mg·kg ⁻¹ /d	112.11 ± 87.28
合并用药/ (0/1/2)	44/28 /228
白细胞计数/ ×10 ⁹ /L	7.06 ± 2.56
红细胞计数 ×10 ¹² /L	4.44 ± 0.44
血红蛋白/ L ⁻¹	128.22 ± 14.89
血小板/ ×10 ⁹ /L	249.62 ± 84.22
中性粒细胞百分比/ %	42.12 ± 14.97
淋巴细胞百分比%	49.04 ± 26.70
总蛋白/g/L	66.80 ± 6.18
白蛋白/g/L	42.82 ± 3.40
球蛋白/g/L	24.22 ± 4.67
谷丙转氨酶/ U/L	16.80 ± 16.27
谷草转氨酶/ U/L	25.60 ± 12.06
γ-谷胺酰转肽酶/ U/L	32.57 ± 40.50
肌酐/ μ mol/L	37.80 ± 12.80
尿素氮/ μ mol/L	4.11 ± 1.22
LTG 浓度 μg/ mL	8.40 ± 3.93

3.2.4 统计学处理

采用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计分析, 用 One-Sample Kolmogorov-Smirnov test 检验样本正态性, $P > 0.05$ 服从正态分布, 以平均值 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm SD$) 表示; 将年龄、性别、合并用药的给药剂量、浓度剂量比和血药浓度之间进行方差分析, 将民族变量的血药浓度之间进行组间比较; 对于连续性变量进行多元线性回归分析。

3.3 结果

3.3.1 影响拉莫三嗪血药浓度因素的多元线性回归分析

统计收集到的 300 例服用 LTG 治疗癫痫患儿的基本资料, 以 LTG 血药浓度为因变量, 以身高、身体质量指数、中性粒细胞百分比、体重、总蛋白、淋巴细胞百分比、血小板计数、谷丙转氨酶、红细胞计数、血红蛋白、白蛋白、谷草转氨酶、尿素氮、肌酐、白细胞计数、 γ -谷氨酰转肽酶、球蛋白等为自变量, 采用多元线性回归分析筛选影响因素。结果显示白细胞计数与血小板这两个因素与 LTG 血药浓度有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 线性回归方程为: $C_{ss}=0.245W-0.014R+9.932$ 。结果见表 3-2。

表 3-2 影响 LTG 血药浓度因素的多元线性回归

Table 3-2 Multiple linear regression of factors influencing LTG blood concentrations

项目	偏回归系数	标准误差	标准化偏回归系数	P 值
白细胞计数/ $\times 10^9/L$	0.49	0.19	0.40	0.014*
血小板/ $\times 10^9/L$	-0.02	0.01	-0.43	0.008*

注: * $p < 0.05$, 有统计学意义。

3.3.2 年龄因素对拉莫三嗪血药浓度的影响

分析年龄因素中患儿的浓度剂量比结果显示: 0~3 岁和 6~16 岁年龄患儿的浓度剂量比差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。结果见表 3-3。

表 3-3 年龄分组不同的患儿拉莫三嗪血药浓度测定结果 ($\bar{x}\pm SD$)Table 3-3 Results of lamotrigine blood levels in different age groups of children($\bar{x}\pm SD$)

项目	0-3 (n=22)	3-6 (n=90)	6-16 (n=188)
	$\bar{x}\pm SD$	$\bar{x}\pm SD$	$\bar{x}\pm SD$
给药剂量	50.96 ± 40.01	79.63±58.39	134.81 ± 94.36
血药浓度	6.93 ± 2.98	8.87 ± 4.26	8.35 ± 3.83
浓度剂量比	1.28 ± 4.37*	0.69 ± 2.71	0.43 ± 1.57*

注: * $p < 0.05$, 有统计学意义。

3.3.3 性别因素对拉莫三嗪血药浓度的影响

对不同性别组的浓度剂量比结果进行方差分析结果显示: LTG 的浓度剂量比结果在性别组之间的结果无统计学意义($P > 0.05$), 结果见表 3-4。

表 3-4 不同性别患儿拉莫三嗪浓度剂量比及其血药浓度测定结果 ($\bar{x}\pm SD$)

Table 3-4 Results of lamotrigine dosing and blood concentration measurements in children of different

genders ($\bar{x}\pm SD$)

项目	男性 (n=166)	女性(n=134)
给药剂量	117.88 ± 87.75	79.63 ± 58.39
血药浓度	8.51 ± 3.36	8.87 ± 4.26
浓度剂量比	1.28 ± 4.37	0.69 ± 2.71

注: * $p < 0.05$, 有统计学意义。

3.3.4 拉莫三嗪与给药剂量的相关性分析

LTG 血药浓度与口服剂量的线性回归方程为 $C_{ss} = 0.001D + 8.282$ ($r = 0.20, P > 0.05$), 其中 C_{ss} 为 LTG 血药浓度, D 为口服剂量, 其相关性散点图见图 3-1。结果显示: LTG 的剂量与血药浓度的相关性较差。

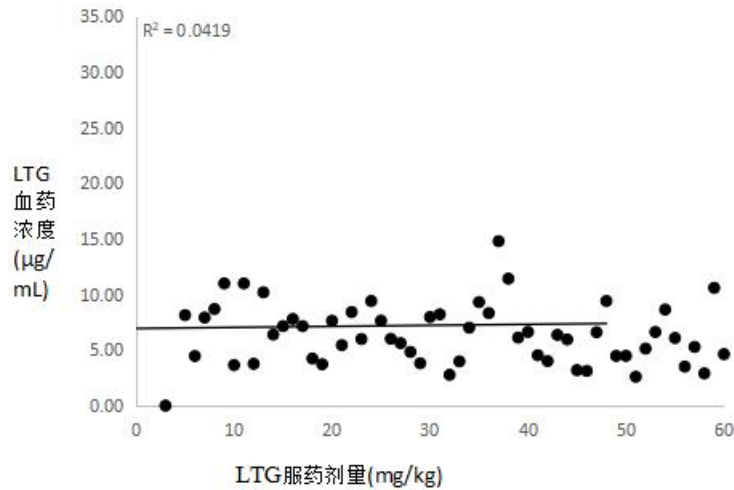


图 3-1 患儿 LTG 给药剂量与稳态血药浓度的散点图

Figure 3-1 Scatter plot of LTG dose and steady-state blood concentration in children

3.3.5 合并用药对拉莫三嗪血药浓度的影响

3 组患儿 LTG 给药剂量和 C_{ss} 的 Pearson 相关分析及浓度剂量比方程分析结果显示: LTG 单药组、LTG 合用葡萄糖醛酸化诱导剂组患儿的 LTG 给药剂量和血药浓度之间无统计学意义 (均 $P > 0.05$); 而 LTG 合用葡萄糖醛酸化抑制剂组患儿的 LTG 给药剂量和血药浓度之间有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。结果见表 3-5。

表 3-5 癫痫患儿联合其他抗癫痫药物后拉莫三嗪剂量与浓度的相关性评价 ($\bar{x} \pm SD$)Table 3-5 Evaluation of the correlation between lamotrigine dose and concentration after combining other antiepileptic drugs in children with epilepsy ($\bar{x} \pm SD$)

项目	组 1 (n=44)	组 2 (n=28)	组 3 (n=228)
给药剂量	167.10 ± 103.79	139.91 ± 90.47	97.85 ± 78.46*
血药浓度	6.81 ± 2.61	5.88 ± 2.73	9.01 ± 4.07
浓度剂量比	0.14 ± 0.38	0.18 ± 0.32	0.71 ± 2.58
R	0.12	0.28	0.13

注: * $p < 0.05$, 有统计学意义。

3.3.6 民族对拉莫三嗪血药浓度的影响

将民族分为: 组 1: 汉族, 组 2: 维吾尔族、组 3: 回族、组 4: 其他民族, 将民族与 LTG 血药浓度进行组间比较后, 发现汉族、维吾尔族、回族之间的血药浓度组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 结果见表 3-6。

表 3-6 不同民族癫痫患儿与浓度的相关性评价 ($\bar{x}\pm SD$)Table 3-6 Evaluation of the correlation between different ethnic groups and concentration in children ($\bar{x}\pm SD$)

项目	组 1 (n=229)	组 2 (n=54)	组 3 (n=11)	组 4 (n=6)
给药剂量	112.03 ± 87.52	112.52 ± 93.59	110.91 ± 66.10	113.33 ± 68.68
血药浓度	8.78 ± 3.98*	6.86 ± 3.10*	6.20 ± 3.31*	11.50 ± 4.71
浓度剂量比	0.68 ± 2.57	0.22 ± 0.49	0.21 ± 0.49	0.19 ± 0.20

注：组 1 汉族：n=229，组 2 维吾尔族：n=54，组 3 回族：n=11，组 4 其他民族：n=6

3.4 讨论

LTG 作为一种新型抗癫痫药，常常用作原发性和继发性全身强直-阵挛性发作、简单和复杂部分性发作的单药治疗^[5]。在本研究当中共选取了 300 例新疆癫痫患儿，用单因素方差分析检验样本正态性，对前期收集到的 22 个变量采用多元线性回归分析方法，分析了影响 LTG 血药浓度的影响因素后发现：在所选取的肝肾功的变量当中白细胞计数与红细胞计数与 LTG 血药浓度差异具有统计学意义（均 $P < 0.05$ ），对 LTG 血药浓度有影响，肝肾功能会影响药物的半衰期、在体内的存留时间、药物与蛋白的结合率等等，进而对药物在人体内的代谢以及排泄产生影响导致血药浓度升高或降低，本研究的发现与倪穗琴^[80]的研究一致，患儿服用 LTG 后的血药浓度与患者的肝肾功能情况有关；而年龄因素中：0~3 岁、6~16 岁年龄组患儿对新疆癫痫患儿的血药浓度有影响，其浓度剂量比差异均有统计学意义（均 $P < 0.05$ ），这与李丹^[10]、BITON V^[81]的研究一致，可能是由于患儿服用药物后的清除率高于成人，使药物在患儿体内代谢较快，故年龄可能会影响服用 LTG 的血药浓度，并且 LTG 的血药浓度与口服剂量相关性差，一项关于 LTG 治疗 7~18 岁和 3~7 岁的癫痫患儿的研究^[10]发现，研究年龄因素中给药剂量与血药浓度的相关性中，7~18 岁的呈正相关，但 3~7 岁患者则无相关性，综合查阅的文献分析本研究中 3~6 岁患儿的给药剂量与血药浓度无相关性的原因可能是：当患儿年龄越小时其药代动力学参数越不稳定，个体差异大；在性别中 LTG 的浓度剂量比结果不具有统计学意义 ($P > 0.05$)，这与赵婷等^[82]的研究一致，性别对患儿服用 LTG 血药浓度的影响不大；本研究做剂量与血药浓度相关性散点图后发现二者之间的相关性不高，分析原因可能有两点：①患儿年龄小 (8.49 ± 4.01)，其药动学参数不稳定，故给药剂量与血药浓度相关性差，②本研究所收集的癫痫患儿血药浓度已达稳态；在合并用药这一因素中 LTG 合用葡萄糖醛酸化抑制剂组的给药剂量和血药浓度有相关性(均 $P < 0.05$)，

这与国外学者 Weintraub 等^[13]研究一致，而 LTG 合用葡萄糖醛酸化诱导剂组的给药剂量和血药浓度无相关性，可能原因为 LTG 合用葡萄糖醛酸化诱导剂组的患者样本量过少，无法体现差异性；在民族因素中 LTG，汉族、维吾尔族、回族之间的血药浓度组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)，这是由于不同民族之间的基因不同，服用药物后对 LTG 的吸收、分布、代谢、排泄能力也不同，故在不同民族之间给药剂量对血药浓度有影响，在本研究中其他民族的给药剂量与血药浓度之间无统计学意义，考虑原因为：①样本量仅有 6 例，数量过少，②其他民族包括：蒙古族、哈萨克族、东乡族等民族，民族组成多。

LTG 作为治疗癫痫的新药之一，有很好的应用前景，为了保证癫痫患者服用 LTG 后的疗效需对服用药物后的患者进行血药浓度监测。与此同时，还要密切关注影响 LTG 血药浓度的因素，根据癫痫患者的具体情况实施个体化给药，最大程度的对患者进行治疗。根据研究提示^[14-18]，基因多态性也是影响 LTG 血药浓度的重要因素之一，在中国汉族癫痫患者中，OCT1 rs628031 和 ABCG2 rs2231142 基因多态性可能对 LTG 代谢产生影响；除此之外，患者用药依从性也是近年来的研究热点，在癫痫这种慢性疾病中，用药依从性会影响到患儿的治疗疗效、预后^[83]以及血药浓度，今后可研究用药依从性对癫痫患儿血药浓度以及用药后的疗效所产生的影响。目前的研究当中，对 LTG 血药浓度影响确切的因素并不多，更多的是研究者根据临床资料、患者用药后的反应以及借助各分析软件对数据进行分析所选取的，对 LTG 有效血药浓度影响的研究还需要后期进一步扩大样本、添加基因多态性以及患者服药依从性进行深入研究。

第4章 GA-BP 神经网络预测拉莫三嗪血药浓度模型建立

随着大数据时代的到来,生物检测技术以及数据收集技术不断发展,研究者在收集数据的过程当中通常可以获得许多高维度的数据,其中就包括基因表达序列、单核苷酸多态性、金融数据、生物医学数据等。根据已有的经验和知识,我们可以给出很多可能与因变量有关的自变量,但如果将所有自变量不经过筛选以及分型就应用到模型中,可能减弱模型的精密度,降低模型的准确性,因此在进行建模前我们要对自变量进行选择,挑选自变量的原则为:①该自变量与应变量之间具有较强的相关性;②该自变量具有一定的代表性,可代替一些对应变量影响较弱的自变量。在建模领域中常常会有高维度的数据、较大的样本量以及数目较大的变量,为了提高模型的准确度及精密度,在构建的模型中有必要对众多变量进行筛选,剔除掉相关性不高或会影响模型准确度精密度的变量。本研究将使用主成分分析、多元线性回归法、试凑法等方法对特征变量进行提取并应用到人工神经网络中建模以选取最优模型。

4.1 主成分分析选取特征变量

主成分分析法(Principal Component Analysis, PCA)是一种线性降维技术,可用于将大型变量集缩减为仍包含大部分原始信息的较小集^[84],PCA的原理是将原始的多维数据用较少的“有效”成分来表示,并且所选取的特征成分包含原始数据的内在信息^[85]。本研究利用了PCA法将性别、年龄、体重等22个可能影响LTG血药浓度的因素进行降维提取有效特征成分,将提取出的成分构建GA-BP神经网络模型,并对LTG血药浓度进行预测。

4.1.1 数据分析过程

在SPSS 23.0进行PCA降维,将数据预处理后利用SPSS 23.0对数据进行PCA降维处理,主成分分析SPSS23.0运行步骤:点击软件上方的导航栏,点击分析;之后点击降维;之后点击描述统计,出现下面工具栏,选择原始分析结果、系数、KMO和Bartlett的球形度检验(K);之后点击抽取,勾选相关性矩阵、未旋转的因子解、碎石图;之后点击旋转,勾选载荷图;之后点击选项,勾选按大小排序。其他默认选择,点击确定,之后SPSS23.0会得到运算结果。SPSS23.0生成的模型汇总在成分矩阵^a中可以看到提取出主成分的个数,并在每列主成分中可看到各变量的占比,根据占比将主成分进行分

类、选择。

4.1.2 结果与分析

利用 SPSS23.0 处理提取的主成分结果见表 4-1。

表 4-1 主成分分析提取主成分结果

Table 4-1 Principal Component Analysis extracted principal component results

组成	成分						
	1	2	3	4	5	6	7
体重	.927	-.211	-.083	.071	.007	-.135	.081
身高	.853	-.429	-.034	.019	-.044	-.139	.050
BMI	.821	-.010	-.109	.109	.051	-.099	.089
年龄	.796	-.498	.011	.006	-.067	-.098	.062
血红蛋白	.784	.237	.036	.043	.052	.235	-.169
谷丙转氨酶	.718	.440	-.348	-.188	.183	.061	.036
肌酐	.676	-.275	-.133	.045	.297	-.128	.104
红细胞	.625	.423	.147	.034	-.095	.133	-.289
总蛋白	.607	.309	.215	.318	-.343	.219	.015
中性粒细胞	.582	-.186	.516	-.468	.153	-.072	-.075
γ -谷氨酰转肽酶	.568	.313	-.324	.014	.054	-.030	.052
淋巴细胞	-.559	.136	-.486	.501	-.140	.064	.112
球蛋白	.465	.462	.289	.061	-.018	-.111	.304
谷草转氨酶	.232	.575	-.436	-.310	.308	.260	.023
白细胞	-.139	.575	.388	.245	.375	-.075	.149
血小板	-.075	-.442	.654	.223	-.075	-.165	.258
民族	-.150	.240	-.026	-.690	-.086	.252	.009
白蛋白	.478	-.030	-.054	.328	-.555	.420	-.008
尿素氮	-.246	-.285	.025	.286	.539	.401	.244
LTG 剂量	.237	-.381	.154	.269	.322	.461	.165
性别	-.145	-.279	.353	-.437	-.197	.457	.206
药物合用	.008	-.040	.286	.294	.288	.106	-.732

注：提取方法：主成分分析法；a：提取了 7 个成分。

在 SPSS23.0 中利用主成分分析法提取主成分后将选取的 22 个变量分为表 4-1 中的

7类:

(1) 第一主成分: 体重、身高、BMI、年龄、血红蛋白、 γ -谷氨酰转肽酶、红细胞计数、谷丙转氨酶、血清肌酐、总蛋白、中性粒细胞、淋巴细胞、球蛋白;

(2) 第二主成分: 谷草转氨酶、白细胞;

(3) 第三主成分: 血小板;

(4) 第四主成分: 民族;

(5) 第五主成分: 白蛋白、尿素氮;

(6) 第六主成分: 性别、LTG 剂量;

(7) 第七主成分: 合并用药。

选择3种方法对变量进行筛选:

方法1: 按照由小到大的顺序随机删除7组主成分中占比小的主成分, 由于剔除占比数值各研究无一个确定的值, 本研究则选择随机剔除占比低于0.60的变量。由表4-1观察7组主成分, 在第一组主成分当中中性粒细胞(0.582)、 γ -谷氨酰转肽酶(0.568)、淋巴细胞(0.559)、球蛋白(0.465); 第二组主成分当中谷草转氨酶(0.575)、白细胞计数(0.575); 第五组主成分当中白蛋白(0.555)、尿素氮(0.539); 第六组主成分当中剂量(0.461)、性别(0.457), 对以上占比小于最0.60的变量随机剔除, 最终通过试凑法将其分为7组输入变量, 输入变量分组如下:

(1) 体重、身高、BMI、年龄、血红蛋白、谷丙转氨酶、 γ -谷氨酰转肽酶、血清肌酐、红细胞计数、总蛋白、中性粒细胞、淋巴细胞、LTG 剂量、白蛋白、谷草转氨酶、血小板、民族、合并用药;

(2) 体重、血清肌酐、身高、谷丙转氨酶、BMI、红细胞计数、中性粒细胞、谷草转氨酶、LTG 剂量、血红蛋白、 γ -谷氨酰转肽酶、年龄、民族、血小板计数、白蛋白、合并用药、总蛋白;

(3) 体重、身高、BMI、年龄、血红蛋白、谷丙转氨酶、血清肌酐、血小板计数、红细胞计数、总蛋白、白蛋白、中性粒细胞、谷草转氨酶、民族、LTG 剂量、合并用药;

(4) 体重、身高、BMI、年龄、血红蛋白、谷草转氨酶、谷丙转氨酶、血小板计数、白细胞计数、民族、红细胞计数、总蛋白、中性粒细胞、血清肌酐、白蛋白、尿素氮、LTG 剂量、合并用药;

(5) 体重、身高、红细胞计数、BMI、年龄、血红蛋白、民族、谷丙转氨酶、白细胞计数、血清肌酐、总蛋白、合并用药、白蛋白、中性粒细胞、血小板计数、性别、谷草转氨酶、LTG 剂量;

(6) 体重、身高、BMI、红细胞计数、血红蛋白、白蛋白、谷丙转氨酶、中性粒细胞、血小板计数、年龄、总蛋白、民族、血清肌酐、谷草转氨酶、尿素氮、LTG 剂量、性别、合并用药;

(7) 体重、BMI、身高、年龄、血小板计数、血红蛋白、红细胞计数、LTG 剂量、谷丙转氨酶、民族、谷草转氨酶、白细胞计数、血清肌酐、白蛋白、中性粒细胞、总蛋白、 γ -谷氨酰转肽酶、合并用药；

方法 2：将第二章的多元线性回归分析方法筛选出影响血药浓度因素的变量作为第 8 组输入变量，分组如下

(8) 白细胞计数、年龄、民族、血小板计数、合并用药；

方法 3：保留全部纳入的变量作为第 9 组输入变量，分组如下：

(9) 保留全部变量。

4.1.2.1 PCA 提取特征后结果

经对比结果，最后筛选出第 6 组变量结果最优，见表 4-2。

表 4-2 模型验证组预测结果

Table 4-2 Prediction results for the model validation group

组别	PE% <10%的占比	PE <15%的占比	MPE	MAE	R
1	81.25%	87.50%	2.40	6.80	96.44%
2	85.42%	95.83%	3.67	6.39	98.83%
3	79.17%	85.42%	4.81	9.15	96.95%
4	89.58%	93.75%	1.88	5.43	99.12%
5	87.50%	93.75%	2.23	3.97	99.31%
6	88.33%	93.33%	0.23	3.92	98.64%
7	79.17%	85.42%	3.74	6.02	98.29%
8	24.49%	32.65%	20.86	41.6	51.18%
9	91.67%	93.75%	1.78	5.27	99.14%

注：PE%：误差%，MPE：平均预测误差，MAE：平均绝对误差，R：相关系数

4.2 遗传反向传播神经网络模型建立

4.2.1 输入变量筛选方法的确定

根据临床治疗并结合相关文献资料，利用多元线性回归分析法、主成分分析法以及保留全部变量三种方法，通过对比三种方法构建的预测模型的结果，最终选取了主成分分析法筛选出的因素作为神经网络输入变量。同时，将癫痫患儿服用 LTG 后的稳态血清谷浓度（ C_{ss} ）作为网络的输出数据。

4.2.2 隐含层数及神经元个数的确定

一般来说,在我们所构建的人工神经网络当中,输入层和输出层可以决定输入神经元以及输出神经元的数目^[86]。反向传播神经网络的结构分为输入层、隐含层以及输出层,正是因为有了隐含层也使得神经网络具备了非线性识别的能力。而神经网络的精度与隐含层的数目也是具有一个正向的关系,当增加隐含层神经元的数目时网络的训练精度也会随之增加,这也使得研究中调整网络训练的效果更加方便,并且增加或减少隐含层神经元个数时将会直接影响到神经网络预测性能,当隐含层神经元数目过少时对网络的信息获取能力就会变差,使之难以收敛到目标误差;当隐含层神经元数目过多时,则会使得神经网络的泛化能力降低,训练时间延长^[87]。那么,如何确定隐含层神经元的个数也成为了一个难题,很多学者提出了各种各样的方法,但依然不能作为一个明确的规定。当增加或减少隐含层神经元的个数时需要考虑各方面的因素,如:样本量的数目、输入层与输出层的神经元数目又或者是网络实习功能的复杂性等等,所以对一个神经网络来说最为关键的步骤就是如何选择隐含层神经元的个数,目前最常用的方法就是试凑法,即通过不断的进行试凑来寻找最合适的隐含层神经元的个数,一般是先从较小的值开始,慢慢的扩大数目,当发现网络的训练精度达到最佳且训练时间较小时则为最佳的隐含层神经元数目。

4.2.3 神经网络初始权值的选取

本课题采用遗传算法优化反向网络的初始权值,优化的目的是缩短网络训练时间,避免在训练的过程中出现局部极小值。用遗传算法优化反向网络权值及阈值的步骤为^[88]:第一步:对遗传反向传播神经网络的权值进行编码;第二步:编码过后生成任意的初始组群;第三步:对个体进行评价(评价方法选择适度函数);第四步:对父代种群进行选择、交叉和变异步骤;第五步:若达到最大进化代数,则选择最优个体作为网络最优初始权值;若未达到则回到第三步,直至达到合适的误差。

4.2.4 模型检验

4.2.4.1 学习能力和泛化能力检验

(1) 检验网络的学习能力:在神经网络训练过程中通常会给出一定的误差范围,观察模型的预测值是否在训练和测试样本的实际输出值的误差范围内,若在范围内则认为该网络的学习能力强,反之则代表网络的学习能力差。

(2) 检验网络的泛化能力:利用测试样本误差的大小来判断神经网的泛化能力。误差若在合理的范围之内,则所构建的模型具有较强的泛化能力,反之则代表泛化能力

弱。

4.2.4.2 BP 神经网络模型预测结果的相关性分析

计算模型预测浓度与实测浓度的相关系数 R ，并做相关性散点图用来评价二者之间的相关性。计算平均绝对误差(mean absolute prediction error, MAE)、平均预测误差(mean prediction error, MPE)、预测误差(prediction error, PE)。模型的精密度用 MAE 来评价；模型的准确性用 MPE 和 RE%超过 $\pm 15\%$ 的样本数来评价^[79]。

4.2.5 血药浓度预测模块的开发

LTG 血药浓度预测模块的开发使用的是编程工具。预测模块开发后进行模型构建，后利用未参与建模的测试组数据来预测血药浓度。

4.3 数据处理

4.3.1 处理数据

利用 Excel 计算 PE%、MPE、MAE 以及 R 。

4.3.2 数据分析

做 LTG 实测值与预测值的相关性散点图，考察二者之间的相关性，以相关系数最接近于 1 者为佳。同时计算 PE%，以 MPE 和 PE% 超过 15% 的样本数量来评价模型预测的准确度，以 MAE 评价模型精密度。MPE 越小，PE%超过 $\pm 15\%$ 的样本数越小，预测的准确度越好；MAE 越小，则模型预测的精密度越好^[89]。相关公式如下：

$$PE = \rho_{ss\text{-predicted}} - \rho_{ss\text{-actual}}$$

$$MPE = 1/n \left(\sum_{i=1}^n PE \right) \quad MAE = 1/n \left(\sum_{i=1}^n |PE| \right)$$

4.4 GA-BP 模型建立

4.4.1 数据预处理

建模组抽取 240 例样本，剩余的 60 例样本作为模型验证组用于验证模型预测能力，在预测前将输入和输出数据进行预处理，其中性别、民族变量赋值 0 或 1 或 2 或 3，即男性为 0，女性为 1；汉族为 0，维吾尔族为 1，回族为 2，其他民族为 3；LTG 单药或与无诱导作用的抗癫痫药物（如左乙拉西坦）合并治疗为 0，与葡萄糖醛酸化诱导剂合用为 1，与葡萄糖醛酸化抑制剂^[90]合用为 2。剩余未赋值的变量要消除其差异性，利用

归一化公式计算进行差异的消除，公式为^[89]：

$$X' = (X - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$$

4.4.2 GA-BP 传播神经网络模型的建立

在进行网络训练时，先输入建模组样本，设置构建参数：将动量系数设置为 0.90，初始学习率选择 0.001，最终学习率选择 0.0001，遗传代数为 6000，最大训练次数为 1000，剩余的参数不改变，设置为默认值。不断进行调试，当得到最佳预测精度时，便可对 LTG 血药浓度进行预测。

利用 Matlab 语言建立 GA - BP 神经网络输入和输出模型结构，构建预测模型。将变量归一化处理，利用 Matlab 开发 LTG 血药浓度预测模块，完成浓度预测。构建 GA - BP 预测模型流程，见图 4-1。

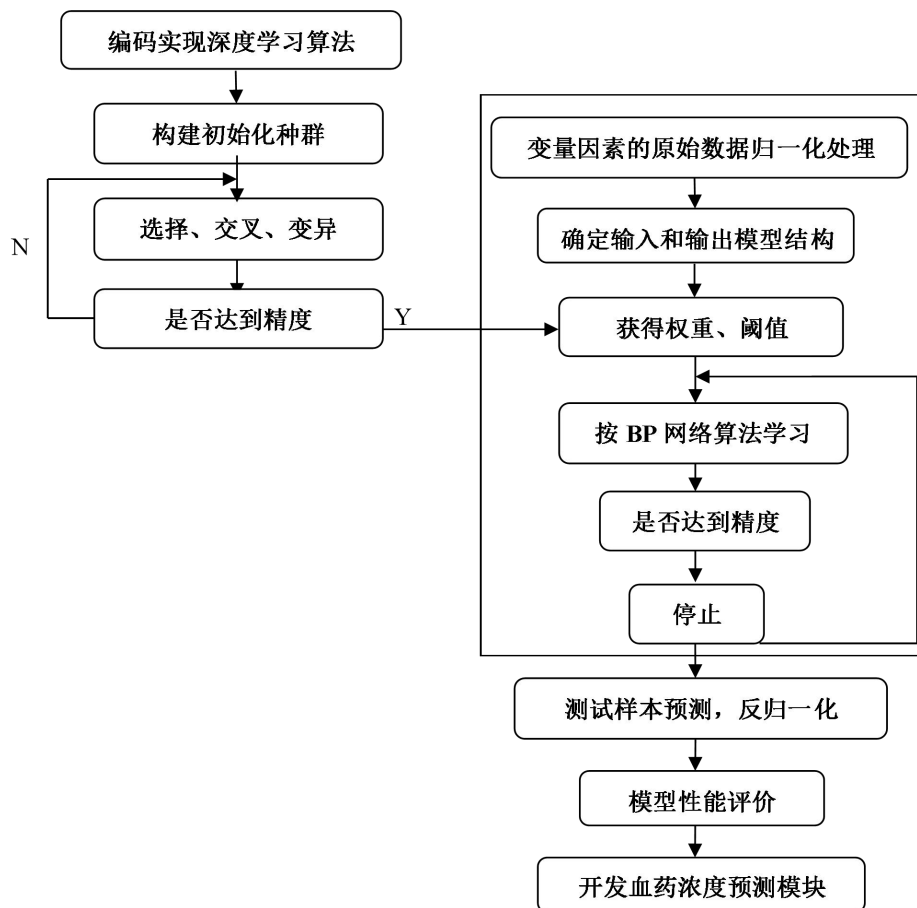


图 4-1 构建遗传反向传播神经网络预测模型流程

Figure 4-1 Flow of building a genetic back propagation neural network prediction model

4.4.3 模型验证

将 60 例模型验证组患儿的 LTG 浓度进行预测, 对比实测浓度, 检验模型预测效果。做 LTG 实测值与预测值的相关性散点图, 考察二者之间的相关性, 同时计算 PE%、MAE、MPE, 考察模型的精密度和准确性。

4.5 结果

4.5.1 建模组与模型验证组基本资料

将收集到的患儿进行随机分组 (建模组 240 例, 模型验证组 60 例), 结果见表 4-3。

表 4-3 建模组与模型验证组患儿基本资料

Table 4-3 Basic information of children in the modelling and model validation groups

项目	建模组	模型验证组
性别 (男/女)	126/114	40/20
年龄	8.37±4.00	8.95±4.47
族别 (汉/维/回/其他)	181/43/11/5	48/11/0/1
身高/ cm	130.77±25.13	132.64±28.28
体重/Kg	31.42±17.07	34.55±21.10
BMI	17.27±3.77	17.87±3.82
剂量/ mg·kg ⁻¹ /d	109.68±86.41	121.81±90.80
合并用药/ (0/1/2)	35/24 /181	9/4 /47
白细胞计数/ ×10 ⁹ /L	7.15±2.56	6.79±2.58
红细胞计数 ×10 ¹² /L	4.40±0.42	4.56±0.50
血红蛋白/ L ⁻¹	126.96±14.47	132.45±15.63
血小板/ ×10 ⁹ /L	250.70±87.57	132.45±15.63
中性粒细胞百分比/ %	42.95±15.25	39.28±13.71
总蛋白/g/L	66.81±5.89	66.77±7.07
白蛋白/g/L	42.86±3.41	42.70±3.41
谷丙转氨酶/ U/L	16.02±14.94	19.93±20.76
谷草转氨酶/ U/L	25.28±11.55	26.91±14.06
肌酐/ μ mol/L	37.20±12.60	38.95±13.27
LTG 浓度 μg/ mL	8.64±4.13	7.41±2.81

4.5.2 浓度预测结果

将 60 例模型验证组的癫痫患儿进行血药浓度预测，并将预测浓度与实测浓度进行比较。在预测的 60 个血药浓度中有 53 个血药浓度的误差值小于 10%，有 56 个血药浓度的误差值小于 15%，误差值小于 15% 的占比是 93.33%，MPE 为 0.23%，MAE 为 3.92%，预测结果见表 4-4。

表 4-4 模型验证组预测结果

Table 4-4 Prediction results for the model validation group

序号	实测值	预测值	差值	误差%
1	5.00	5.45	-0.45	9.08
2	6.16	6.09	0.07	-1.20
3	5.28	5.81	-0.53	9.97
4	6.12	6.14	-0.02	0.28
5	11.80	11.66	0.14	-1.19
6	29.31	25.07	4.24	-14.48
7	5.65	5.70	-0.05	0.83
8	11.76	11.27	0.49	-4.14
9	16.41	16.32	0.10	-0.58
10	12.84	12.56	0.23	-2.16
11	8.56	8.70	-0.14	1.66
12	6.34	6.47	-0.13	2.08
13	7.57	7.73	-0.16	2.16
14	10.63	10.55	0.08	-0.77
15	11.90	12.41	-0.51	4.29
16	4.23	4.26	-0.03	0.76
17	9.94	9.93	0.01	-0.06
18	9.20	9.49	-0.29	3.17
19	9.02	9.08	-0.06	0.69
20	7.61	7.62	-0.01	0.09
21	16.11	16.08	0.04	-0.22
22	6.31	6.95	-0.64	10.20
23	9.57	9.19	0.38	-4.01
24	2.98	3.55	-0.57	19.11

续表

序号	实测值	预测值	差值	误差%
25	5.21	5.96	-0.75	14.41
26	12.94	13.02	-0.08	0.61
27	15.20	11.34	3.86	-25.39
28	10.31	9.94	0.37	-3.63
29	16.15	15.58	0.57	-3.52
30	13.14	13.11	0.03	-0.24
31	3.65	3.73	-0.08	2.10
32	10.31	9.91	0.40	-3.84
33	11.94	11.95	-0.01	0.10
34	18.48	19.00	-0.52	2.79
35	10.90	8.53	2.37	-21.75
36	8.19	7.93	0.26	-3.13
37	6.62	6.65	-0.03	0.41
38	14.42	14.43	-0.01	0.09
39	3.92	3.99	-0.07	1.69
40	8.32	8.22	0.10	-1.26
41	4.09	4.09	0.00	-0.05
42	9.31	9.25	0.06	-0.64
43	10.99	10.95	0.05	-0.41
44	3.51	3.73	-0.22	6.35
45	14.64	14.59	0.05	-0.33
46	4.01	4.06	-0.05	1.32
47	10.20	9.67	0.53	-5.18
48	8.68	8.59	0.09	-0.99
49	12.31	12.25	0.06	-0.47
50	7.15	7.21	-0.06	0.79
51	4.32	5.05	-0.73	16.81
52	8.03	8.08	-0.05	0.60
53	12.66	12.71	-0.05	0.36
54	15.20	14.77	0.43	-2.80
55	9.66	9.78	-0.12	1.197

续表

序号	实测值	预测值	差值	误差%
56	13.00	13.90	-0.90	6.95
57	15.95	14.85	1.10	-6.88
58	3.81	3.95	-0.14	3.76
59	3.98	3.94	0.04	-1.06
60	6.01	5.99	0.02	-0.40
$\bar{x} \pm SD$	9.63 ± 4.76	9.48 ± 4.33	0.15 ± 0.84	0.23 ± 6.90

4.5.3 预测值与实测值相关性分析

$R > 0$ 表示二者正相关, $R < 0$ 表示二者负相关。 $R < 0.3$ 认为两者无直线相关关系, $0.3 \leq R < 0.5$ 为低度相关关系, $0.5 \leq R < 0.8$ 为中度相关, $R \geq 0.8$ 时认为两者具有较强的相关性。

癫痫患儿服用 LTG 后血药浓度验证见图 4-2, 实测浓度和预测浓度之间的相关性见图 4-3, 相关系数为 0.9864。根据结果可知, 预测浓度和实测浓度之间相关性较高, 预测结果比较理想。提醒 GA - BP 神经网络可初步为需要调整 LTG 剂量或无法监测 LTG 血药浓度水平的患儿提供浓度预测。

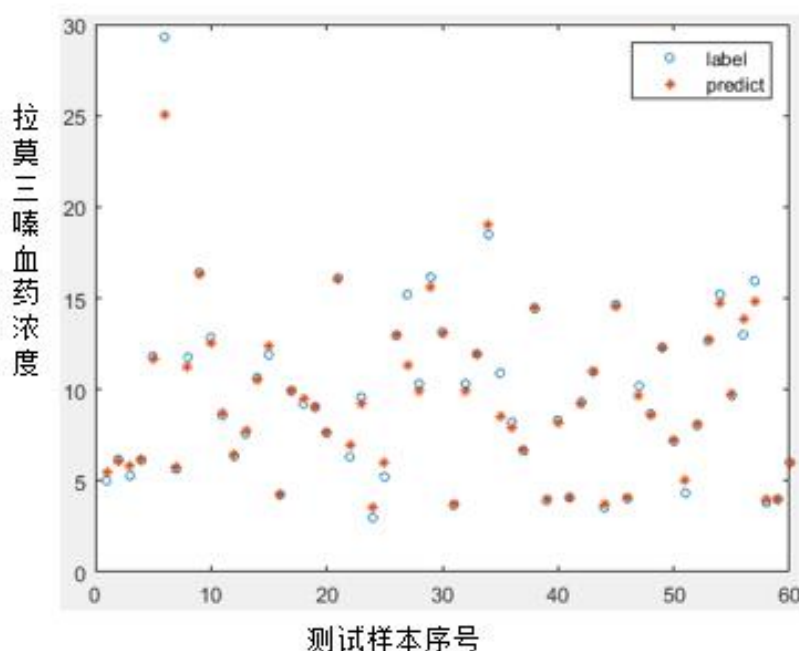


图 4-2 新疆癫痫患儿 LTG 血药浓度预测验证图

Figure 4-2 Validation of LTG blood concentration prediction in children with epilepsy in Xinjiang

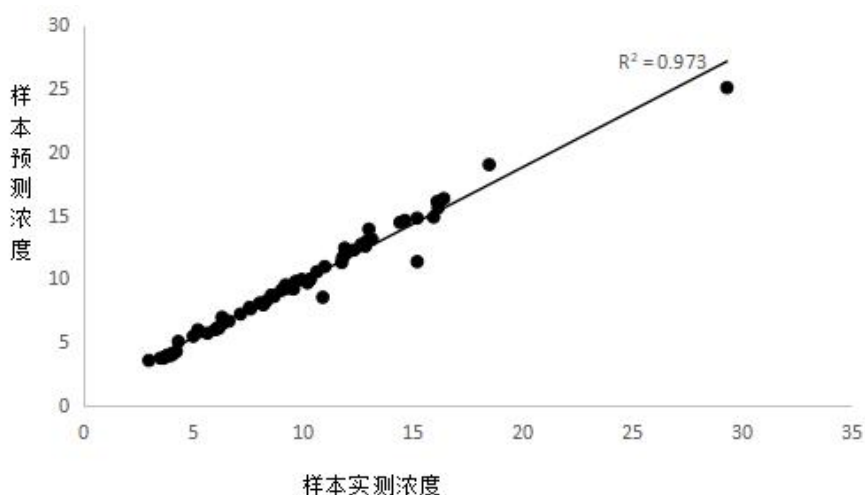


图 4-3 GA - BP 神经网络法预测 LTG 血药浓度相关性分析

Figure 4-3 Correlation analysis of the GA - BP neural network method for predicting LTG blood concentrations

4.6 讨论

目前治疗癫痫患儿的主要手段是药物治疗，多数患儿需长期服药进行治疗^[91]。

儿童成长时生理变化较大，虽然 LTG 口服后迅速吸收，且不受食物的影响^[92]，但药物在儿童体内的代谢动力学各方面都受到生长和发育的影响，且不同年龄患儿服用药物后的半衰期、代谢速率以及排泄速率是不同的^[93]，因此患儿服用抗癫痫药物时需考虑患儿的药物代谢动力学的相关问题，并且儿童的用药依从性较差，要确保癫痫患儿服药后的疗效，一般要进行血药浓度的监测并实施个体化给药。而血药浓度的预测方法，可以及时调整患儿服药剂量，为临床用药提供理论依据。在众多的预测模型中，ANN 依然是应用较多的一种预测模型，相较于其他预测模型（多元线性回归分析、非线性混合效应模型、蒙特卡洛法等），具有准确度高、预测性能好^[26-29]的优势。国内外研究均提示利用人工神经网络可预测药物血药浓度，邱枫^[79]等人的研究提示利用遗传反向传播神经网络可以预测患者服用 VPA 的血药浓度进行血药浓度的预测，并将实际测定浓度与预测浓度进行比较发现，在预测的 50 个值中，误差小于 15% 的占比是 78%，人工神经网络预测的血药浓度和实际测定浓度之间的相关系数为 0.9476。王军、张晨^[94-95]等人也对 VPA 的血药浓度进行了预测，两个研究均采用人工神经网络的方法，王军的预测结果为：在预测的 30 个值里，误差值 < 15% 的有 21 个，误差 > 20% 有 3 个；张晨的研究结果为：在预测的 30 个值里，误差值范围为 0.61~23.33 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，有 26 例误差 $\leq \pm 15\%$ ，超过 $\pm 20\%$ 的为 3 例，两个研究的结果均提示 ANN 预测血药浓度的方法是可行的；此外在国外的研究中 Jovanović Marija^[96]等人利用 GA-BP 神经网络对癫痫患者中托吡酯的浓

度进行预测, 研究发现预测癫痫患者托吡酯浓度并调整成年人口中已确定的变异因素的相对重要性是可行的; Yamamura Shigeo^[29]等人利用 ANN 预测了烧伤患者的血浆氨基糖苷浓度, 通过建模以及数据处理得到的结果为人工神经网络的预测性能模型 ($r=0.9862$) 优于线性模型 ($r=0.8827$), 提示 ANN 可准确预测血浆氨基糖苷的浓度, 且优于其他预测模型。这些研究均提示 ANN 可较为准确的对血药浓度进行预测并为临床用药提供依据。本研究将 PCA 方法筛选出的相关变量应用在 GA-BP 神经网络中预测了 60 例患儿的血药浓度结果, 其中有 53 个血药浓度的误差值小于 10%, 有 56 个血药浓度的误差值小于 15%, 误差值小于 15% 的占比是 93.33%, MPE 为 0.23%, MAE 为 3.92%, 相关系数为 0.9864, 预测的准确度较其他模型高, 相关性也优于其他模型。

本文以 LTG 为研究对象, 利用遗传-反向传播神经网络对癫痫患儿体内药物浓度进行预测, 结果显示, GA-BP 网络可用于新疆癫痫患儿服用 LTG 后血清谷浓度的预测研究, 未来有待将 GA-BP 神经网络技术推广并应用在临床, 为个体化给药方案提供帮助, 也为偏远地区无法及时监测到血药浓度的癫痫患儿提供帮助。本文通过阅读文献、查阅临床资料共引用了 22 个可能影响 LTG 血药浓度的因素, 若条件满足还可以增加基因多态性、患者服用药物后的依从性等可能影响到血浓度的因素, 利用更精准的变量对药物的血药浓度进行预测, 考察增加了这些因素后模型的精密度或准确度是否有进一步的提升, 未来对于预测模型的研究中应将变量的选取作为一个重点内容, 选择合适且具有代表性的的变量, 可使模型的预测准确性提高, 也使在数据收集时更加简便、快捷, 期待将来可以选择出更合适、精确的影响血药浓度的因素去进行预测, 将其应用在临床的实际应用当中, 可以为广大医护人员在临床用药时提供帮助, 为患者减轻看病负担。

全文总结

本研究通过 1.LTG 血药浓度监测方法学的建立; 2.服用 LTG 癫痫患儿基本信息的收集以及对新疆癫痫患儿中血药浓度相关影响因素分析; 3.利用 GA-BP 神经网络建立预测 LTG 血药浓度模型三个步骤完成了整个课题。

通过对课题的研究与摸索实践发现, 本课题有以下几点创新之处:

(1) 通过超高效液相色谱法建立了简单、快捷的测定 LTG 血药浓度的方法, 并通过分析发现白细胞计数、红细胞计数、年龄因素、民族因素、合并用药因素与服用 LTG 后的血药浓度有统计学意义(均 $P < 0.05$), 为之后的预测模型在变量选择方面提供了理论基础;

(2) 通过主成分分析法对相关变量进行了筛选, 在以往预测模型变量选择的研究中, 并没有一个合适的变量筛选的方法, 本课通过对比筛选变量和未筛选变量后的结果发现, 主成分分析法可以应用在预测模型的变量筛选中;

(3) 通过探讨新疆患儿服用 LTG 后稳态血清药物浓度, 提出了 GA-BP 神经网络预测模型;

(4) 克服了以往基于多元线性回归分析的预测模型适应性差、精度低的缺点, 可以有效提高模型的准确性和可靠性。

本课题的不足之处:

(1) 应扩大收集的样本量, 以提高预测模型的精密度与准确度;

(2) 收集到的癫痫患儿数据中的有缺失数据, 应找一个合适的方法插补缺失数据, 或收集患儿完整的数据;

(3) 在影响 LTG 血药浓度的因素中由于实验条件限制未收集到患儿的基因多态性以及营养指标的数据。

参考文献

- [1] 周春闽,王志坚,李凌恩. 青少年癫痫患者精神心理障碍的发生及影响因素分析[J]. 创伤与急诊电子杂志,2017,5(3):118-123.
- [2] 王英杰, 李杨. 以家庭为中心的教育干预对活动性癫痫患儿服药依从性及健康状况的影响[J]. 中华护理杂志, 2015,50(10): 1157-1162.
- [3] Perucca E, Tomson T. The pharmacological treatment of epilepsy in adults [J]. *Lancet Neurol*, 2011, 10(5): 446 -456.
- [4] Shorvon SD. Drug treatment of epilepsy in the century of the ILAE: thesecond 50 years, 1959-2009 [J]. *Epilepsia*, 2009, 50(Suppl 3): 93 -130.
- [5] Eriksson AS, Nergårdh A, Hoppu K. The efficacy of lamotrigine in children and adolescents with refractory generalized epilepsy: a randomized, double-blind, crossover study. *Epilepsia*. 1998;39(5):495-501.
- [6] 中华医学会神经病学分会脑电图与癫痫组,抗癫痫药物应用专家共识[J]. 中华神经科杂志,2011(01):56-65.
- [7] 高学军,薛涛,马利,等. 拉莫三嗪治疗癫痫的临床研究[J]. 现代生物医学进展,2013,13(16):3095-3098.
- [8] 胥丽霞,杨改清,张明梅,等. 拉莫三嗪治疗癫痫的有效性和安全性分析[J]. 现代医药卫生,2021,37(12):2004-2006.
- [9] Johannessen SI, Tomson T. Pharmacokinetic variability of newer antiepileptic drugs: when is monitoring needed? [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2006, 45(11):1061-1075.
- [10] 李丹,黄绍平.拉莫三嗪血药浓度与剂量合并用药和年龄关系研究[J]. 中国实用儿科杂志, 2014, 29(10): 763 -765.
- [11] 张振华,韩世富. 血药浓度与临床合理用药的关系[J]. 河南医药,1984,4(5):297-298.
- [12] 闫辉辉,朱智慧,刘伦铭,等.基于小波神经网络时间序列模型预测血药浓度的研究[J]. 中国现代应用药学, 2016, 33(11) :1417-1422.
- [13] Wwintraub D, Buchsbaum R, Resor SR Jr, et al. Effect of antiepileptic drug comedication on lamotrigine clearance [J]. *Arch Neurol*, 2005, 62(9): 1432 -1436.
- [14] Chen Yanan, Xu Shansen, Wang Zhanyou et al. A Population Pharmacokinetic-Pharmacogenetic Model of Lamotrigine in Chinese Children With Epilepsy [J]. *Ther Drug Monit*, 2018, 40: 730-737.
- [15] Reimers Arne, Skogvoll Eirik, Sund Janne Kutschera et al. Lamotrigine in children and adolescents: the impact of age on its serum concentrations and on the extent of drug interactions[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2007, 63: 687-692.

- [16] Han Xiaonian, Huang Jing, Lv Jianhua et al. The influence of concomitant antiepileptic drugs on lamotrigine serum concentrations in Northwest Chinese Han population with epilepsy [J]. PLoS One, 2019, 14: e0210600.
- [17] Lovrić Mila, Božina Nada, Hajnšek Sanja et al. Association between lamotrigine concentrations and ABCB1 polymorphisms in patients with epilepsy [J]. Ther Drug Monit, 2012, 34: 518-525.
- [18] Liston H L, Markowitz J S, DeVane C L. Drug glucuronidation in clinical psychopharmacology [J]. J Clin Psychopharmacol, 2001, 21: 500-515.
- [19] Rambeck B, Specht U, Wolf P. Pharmacokinetic interactions of the new antiepileptic drugs [J]. Clin Pharmacokinet, 1996, 31: 309-324.
- [20] 周素琴,张鸿燕,赵慧. 血药浓度监测技术的进展及存在的问题[J]. 中国医院药学杂志,2009,29(07): 568-571.
- [21] 李龙艳,曹扬,潘克家. 基于差分进化算法优化多因素灰色模型的异丙酚血药浓度预测[J]. 药学学报, 2017, 52(10): 1599 -1604.
- [22] 汤井田,曹扬,肖嘉莹,等. 基于粒子群优化支持向量机的瑞芬太尼血药浓度预测模型[J]. 中国药学杂志,2013,48(16):1394-1399.
- [23] YAMAMURAS S.C Clinical application of artificial neural network (ANN) modeling to predict pharmacokinetic parameters of severely ill patients [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2003, 55: 1233 -1251.
- [24] CHOW. H, TOLLE.KM, ROE.DJ, et al. Application of neural networks to population pharmacokinetic data analysis[J]. J Pharm Sci, 1997, 86(7): 840-845.
- [25] CHEN, HY, CHEN. TC, MIN. DI, et al. Prediction of tacrolimus blood levels by using the neural network with genetic algorithm in liver transplantation patients [J]. Ther. Drug Monit, 1999, 21(1):50-56.
- [26] Renganathan V. Overview of artificial neural network models in the biomedical domain. Bratisl Lek Listy [J]. 2019, 120(7): 536-540.
- [27] GOREN S, KARAHOCA A, ONAT F Y, et al. Prediction of cyclosporine A blood levels: an application of the adaptive-network-based fuzzy inference system (ANFIS) in assisting drug therapy [J]. Eur J Clin Pharmacol, 2008, 64(8):807-814.
- [28] KANG S H, POYNTON M R, KIM K M, et al. Population pharmacokinetic and pharmacodynamic models of remifentanyl in healthy volunteers using artificial neural network analysis[J]. Br J Clin Pharmacol, 2007, 64(1):3-13.
- [29] Yamamura Shigeo, Kawada Keiko, Takehira Rieko et al. Artificial neural network modeling to predict the plasma concentration of aminoglycosides in burn patients [J]. Biomed Pharmacother, 2004, 58: 239-244.
- [30] 凌志扬,孙越,姜金凤. 癫痫患者服用卡马西平安全性问题的新进展[J]. 中国当代医药,2010, 17(13): 13-14.

- [31] Casetta I, Pugliatti M, Faggioli R et al. Incidence of childhood and adolescence epilepsy: a community-based prospective study in the province of Ferrara and in Copparo, Italy, 1996-2005 [J]. *Eur J Neurol*, 2012, 19: 312-316.
- [32] Gu Lian, Liang Baoyun, Chen Qing et al. Prevalence of epilepsy in the People's Republic of China: a systematic review [J]. *Epilepsy Res*, 2013, 105: 195-205.
- [33] Fisher RS, Cross JH, French JA, et al. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology [J]. *Epilepsia*, 2017, 58(4):522-530.
- [34] 杨宝峰. 药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007:137
- [35] Mantegazza M, Curia G, Biagini G, et al. Voltage-gated sodium channels as therapeutic targets in epilepsy and other neurological disorders [J]. *Lancet Neurol*, 2010, 9(4):413-424.
- [36] Seo H J, Chiesa A, Lee S J, et al. Safety and tolerability of lamotrigine: results from 12 placebo-controlled clinical trials and clinical implications [J]. *Clin Neuropharmacol*, 2011, 34(1):39-47
- [37] Poolos N P, Migliore M, Johnston D. Pharmacological upregulation of h-channels reduces the excitability of pyramidal neuron dendrites [J]. *Nat Neurosci*, 2002, 5(8):767-774.
- [38] 王环鑫. 拉莫三嗪在癫痫人群中的有效浓度研究[D]. 中国医科大学, 2019.
- [39] RAMBECK B, WOLF P. Lamotrigine clinical pharmacokinetics [J]. *Clin Pharmacokinet*, 1993, 25(6):433-443.
- [40] STEFAN H, FEUERSTEIN T J. Novel anticonvulsant drug [J]. *Pharmacol Ther*, 2007, 113(1): 165-183.
- [41] 药品说明书(2018-12-25)-拉莫三嗪分散片(Glaxo Smith Kline Pharmaceutical company).
- [42] Rowland A, Elliot DJ, Williams JA, et al. In vitro characterization of lamotrigine N2-glucuronidation and the lamotrigine-valproic acid interaction [J]. *Drug Metab Dispos*, 2006, 34:1055-1062.
- [43] 和凡, 何艳玲, 祁俊华, 等. 合并抗癫痫药物对癫痫患儿拉莫三嗪血药浓度的影响 [J]. *儿科药学杂志*, 2013, 19(09):33-36.
- [44] 刘佳, 李根. 拉莫三嗪治疗癫痫的临床效果观察 [J]. *中国医药指南*, 2019, 17(26):159.
- [45] 盛怀龙. 拉莫三嗪治疗癫痫的临床研究 [J]. *中国医药指南*, 2019, 17(31):123-124.
- [46] 李昌, 钟健, 唐翠娥, 等. 拉莫三嗪治疗成人部分性癫痫发作的疗效评价 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2013, 21(10):69-70.
- [47] 赵新春, 邢效如, 台立稳. 拉莫三嗪对癫痫患者疗效和安全性及生活质量影响研究 [J]. *现代预防医学*, 2015, 42(14):2663-2665.
- [48] 裴红霞. 拉莫三嗪治疗特发性癫痫患者的效果分析 [J]. *中国处方药*, 2020, 18(08):104-115.
- [49] 张曙光, 石磊, 杨鉴, 等. 加用拉莫三嗪治疗成人难治性部分性癫痫的疗效观察 [J].

中国药房,2012,23 (26):2451-2452.

[50] Syed Tanvir U, Sajatovic Martha. Extended-release lamotrigine in the treatment of patients with epilepsy [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2010, 11: 1579-1585.

[51] Rong Li, Qin Zhou, Shuchun Ou, et al . Comparison of long-term efficacy, tolerability, and safety of oxcarbazepine, lamotrigine, and levetiracetam in patients with newly diagnosed focal epilepsy: An observational study in the real world [J]. *Epilepsy Res*, 2020, 166:106408.

[52] 袁强,李锋同,钟红平. 拉莫三嗪单药治疗小儿失神癫痫的效果分析[J]. *山西医科大学学报*,2015,33,46 (11):1130-1131.

[53] 田怀平,高蕙敏,张金莲,唐跃年. 拉莫三嗪治疗儿童及青少年失神性癫痫的系统评价[J]. *药学实践杂志*,2015,33 (03):263-268.

[54] 刘砚韬,张伶俐,黄亮,等.拉莫三嗪单药治疗儿童癫痫的系统评价[J]. *中国当代儿科杂志*,2016,18 (07):582-588.

[55] 田怀平,宗云龙,张金莲,等. 拉莫三嗪添加治疗儿童癫痫的疗效与安全性 Meta 分析 [J]. *西北药学杂志*,2015,30(04):429-432.

[56] Valencia Ignacio, Piñol-Ripoll Gerard, Khurana Divya S et al. Efficacy and safety of lamotrigine monotherapy in children and adolescents with epilepsy [J]. *Eur J Paediatr Neurol*, 2009, 13: 141-145.

[57] Hur Yun Jung. Comparison of lamotrigine and oxcarbazepine monotherapy for pediatric focal epilepsy: An observational study [J]. *Seizure*, 2018, 60: 123-126.

[58] Yasumoto S, Ohtsuka Y, Sato K, et al. Long-term efficacy and safety of lamotrigine monotherapy in Japanese and South Korean pediatric patients with newly diagnosed typical absence seizures: An open-label extension study [J]. *Brain Dev*, 2018, 40(9):786-791.

[59] Cao Jing, Lin Xiao-Xiao, Ma Xiang-Ming, et al. The efficacy and safety of lamotrigine for absence seizures in children and adolescents: A systematic review and meta-analysis [J]. *J Clin Neurosci*, 2020, 71: 199-204.

[60] Nolan Sarah J, Marson Anthony G, Weston Jennifer et al. Carbamazepine versus phenobarbitone monotherapy for epilepsy: an individual participant data review [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2016, 12: CD001904.

[61] 拉莫三嗪说明书[P]. 葛兰素史克(天津)有限公司,中国,2011.

[62] Yuan HB, Zhu Y, Chen L. Retrospective analysis of lamotriazine tablet adverse reactions [J]. *Mod Prev Med(现代预防医学)*,2012,39(22):6088-6090.

[63] Saeki H, Yamada K, Morikawa N et al. Severe drug eruptions due to lamotrigine in Japan based on data from the relief system of the Pharmaceuticals and Medical Devices Agency [J]. *Allergol Int*, 2017, 66(1):156-158.

[64] 冯少彬,王秀丽,刘世福,等.拉莫三嗪致重症剥脱性皮炎[J]. *中国医院药学杂志*,2010,30(01):93-96.

[65] FDA. FDA Drug Safety Communication: FDA warns of serious immune system reaction

with seizure and mental health medicine lamotrigine (Lamictal).

[66] Gao Y, Yu AP, Jiang YF, et al. Association between HLA-B*1502 allele and lamotrigine-induced cutaneous adverse reactions in Southern Han Chinese with epilepsy:A meta-analysis [J]. Chin Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 2016, 36(2):110-114.

[67] Shi YW, Min FL, Zhou D, et al. HLA-A* 24:02 as a common risk factor for antiepileptic drug-induced cutaneous adversereactions[J]. Neurology, 2017, 88(23):2183-2191.

[68] Teh LK, Selvaraj M, Bannur Z, et al. Coupling Genotyping and Computational Modeling in Prediction of Anti-epileptic Drugs that cause Stevens Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis for Carrier of HLA-B* 15: 02 [J]. J Pharm Pharm Sci, 2016, 19(1):147-160.

[69] Wu J, Wu ZH. Clinical dermatology(临床皮肤病学) [M]. Vol1. People's Military Medical Press, 2011:167-168.

[70] Zhao Ting, Yu Lu-Hai, Wang Ting-Ting et al. Development and validation of an innovative UPLC method to quantify lacosamide, oxcarbazepine, and lamotrigine in the serum of children with epilepsy in China [J]. Biomed Chromatogr, 2021, 35: e5022.

[71] 李京峰,孟志云,朱晓霞,等. 超高效液相色谱法测定紫杉肽中紫杉醇含量[J]. 国际药学研究杂志,2014,41(6):703-706

[72] Bentue-Ferrer D, Tribut O, Verdier MC, et al. Therapeutic drug monitoring of lamotrigine[J]. Therapie, 2010, 65:39-46

[73] 朱永坚,黄文灿,倪晓佳,等. HPLC 方法测定人血清拉莫三嗪浓度及其在临床治疗药物监测中的应用[J]. 今日药学,2015,25(7): 473-475.

[74] 宗静,李发双,茹毅,等. 超高效液相色谱法测定奥卡西平活性代谢产物的血药浓度 [J]. 儿科药学杂志,2022,28(01):19-21.

[75] Fr scher W, Keller F, Vogt H, et al.Prospective study on concentration-efficacy and concentration-toxicity: correlations with lamotrigine serum levels [J]. Epileptic Disord, 2002, 4(1):49-56.

[76] Fisher Robert S, Acevedo Carlos, Arzimanoglou Alexis et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy [J]. Epilepsia, 2014, 55: 475-482.

[77] 王璐.对影响拉莫三嗪稳态血药浓度的相关因素分析[J]. 当代医药论丛,2015,13(04):128-129.

[78] Chen Yanan, Xu Shansen, Wang Zhanyou et al. A Population Pharmacokinetic-Pharmacogenetic Model of Lamotrigine in Chinese Children With Epilepsy [J]. Ther Drug Monit, 2018, 40: 730-737.

[79] 邱枫,何晓静,肇丽梅,等. 人工神经网络技术预测癫痫患儿服用丙戊酸后体内药物浓度[J]. 中国药理学杂志,2012,28(02):96-98.

[80] 倪穗琴,张晨,热孜万·艾尔肯,等. 影响拉莫三嗪血药浓度因素的研究[J]. 今日药

学,2015,25(02):110-113.

[81] BITON V. Pharmacokinetics, toxicology and safety of lamotrigine in epilepsy [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2006, 2(6): 1009 -1018.

[82] 赵婷,李红健,王婷婷,等. 新疆癫痫患儿拉莫三嗪稳态血药浓度影响因素的研究[J]. *中国临床药理学杂志*,2021,37(15):1981-1984.

[83] Zhang Y. Study of medication adherence and influencing factors in children with chronic diseases [D]. Yan' an :Yan' an University, 2019: 10-11.

[84] Jolliffe I. Principal component analysis. In: Lovric M (ed.) *International encyclopedia of statistical science* [J]. Berlin: Springer, 2011, pp. 1094-1096.

[85] 陈佩. 主成分分析法研究及其在特征提取中的应用[D]. 陕西师范大学,2014.

[86] 颜永彪. 储粮粮虫检测系统的设计与实现[D]. 安徽大学,2018.

[87] 刘伟伟. 基于遗传算法的前馈神经网络优化研究[D]. 西北民族大学,2011.

[88] 孙强. 基于人工神经网络的汽车声品质评价与应用研究[D]. 吉林大学,2010.

[89] 任斌,何秋毅,许琼,等. 人工神经网络预测肾移植受者霉酚酸体内暴露药量[J]. *药学学报*,2009,44(12):1397-1401.

[90] Zaccara G, Perucca E. Interactions between antiepileptic drugs, and between antiepileptic drugs and other drugs [J]. *Epileptic Disord*, 2014, 16(4): 409-431.

[91] 陈超端,谢焕山,陈宏镇,等. 蒙特卡洛模拟优化中国癫痫儿童患者丙戊酸的维持给药方案[J]. *中国临床药理学杂志*,2020,36(9):1079-1081.

[92] RAMBECK B, WOLF P. Lamotrigine clinical pharmacokinetics [J]. *Clin Pharmacokinet*, 1993, 25(6):433-443.

[93] 于晓明. 不同发育阶段儿童癫痫的用药特点及不良反应研究进展[J]. *临床医药文献电子杂志*,2017,4(88):17415-17416.

[94] 王军,付翠香,吴伟明,等. 基于人工神经网络的丙戊酸钠个体化给药设计[J]. *中国临床药学杂志*,2013,22 (01):39-42.

[95] 张晨,倪穗琴,温预关,等. 应用 GA - BP 人工神经网络预测丙戊酸钠血药浓度[J]. *今日药学*,2014,24 (01):7-10.

[96] Jovanović M, Sokić D, Grabnar I, et al. Application of Counter-propagation Artificial Neural Networks in Prediction of Topiramate Concentration in Patients with Epilepsy [J]. *Pharm Pharm Sci*, 2015, 18(5):856-862.

致谢

时光的流逝也许是客观的，然而流逝的快慢却是一种主观的感受。当自己终于可以从学业、毕业论文的压力中解脱出来，我忽然意识到，原来三年已经过去，到了该告别的时候了。一念至此，我竟有些恍惚，所谓白驹过隙、百代过客云云，想来便是这般惆怅了。可是惆怅过后，总感觉自己要说些什么，要对自己所获得的知识以及经验做出感谢。

首先，想感谢我的导师，本论文是在于鲁海老师的悉心指导下完成的。老师渊博的专业知识，严谨的治学态度，精益求精的工作作风，诲人不倦的高尚师德，严以律己、宽以待人的崇高风范，朴实无华、平易近人的人格魅力对我影响深远。不仅是我树立了远大的学术目标、掌握了基本的研究方法，还使我明白了许多待人接物，与人处事的道理。除此之外，在生活中于老师也给予我很多帮助，给我枯燥的学习增添了许多温暖。

其次，我还要感谢实验室的李红健老师、赵婷老师、王婷婷老师、冯杰老师，他们在学习上对我的帮助，如果没有他们，我可能会在学习的过程中走很多弯路，是他们将自己的经验毫无保留的教给了我。尤其感谢赵婷老师在我情绪最低落的时候对我的关心和安慰，让我在陌生的环境感受到了家人般的温暖。

另外，感谢药学院的老师们对我的教导，尤其是研办的王国庆老师，对我所提出的问题总是耐心解答，为我们校外学习的学生解决各种困难。

最后，我要感谢我的家人以及朋友。感谢我的家人这三年来一直为我无私奉献和默默的支持，让我能够安心完成学业；感谢我的好朋友李佐萍为我带来快乐，给我精神支撑；感谢李雅琪、张今潞、范宁、石蕾对我学习和生活上的帮助；感谢程丽婷、汪飞、李雪儿在我最低迷的时候给我力量；感谢我的师妹杨泽萍在学习和生活中为我带来的欢乐和动力；感谢他们给了我无限的包容和爱，让我找回了自己，让我心怀光明，一直前进。

这段路程对我来说，是突破，是成长，纵有万般不舍，也得挥手告别，感恩遇见，感谢经历，向未来致敬，愿前程似锦！

作者简介

马雪，女性，生于1996年11月，籍贯宁夏。2019年毕业于石河子大学药学院药学本科。于2019年9月起就读石河子大学药学院临床药学及药物评价专业硕士。

在学期间主要参与的研究项目

1. 利用人工神经网络技术预测服用奥卡西平癫痫患者体内药物浓度的研究（项目编号：2016D01C097）
2. 基于CYP3A4及药代动力学的水飞蓟宾素与索磷布韦/韦帕他韦片相互作用研究（项目编号：2020D01C100）
3. 基于TDM和CYP2C19基因多态性检测的侵袭性真菌感染患者伏立康唑个体化给药方案的建立（项目编号：20220132）
4. 药物转运体P-糖蛋白活性与癫痫患儿拉考沙胺血药浓度和临床疗效的相关性研究（项目编号：YXH202105）

在学期间发表的文章


- [1] 马雪,李红健,赵婷,王婷婷,冯杰,于鲁海.利用GA-BP神经网络前瞻性预测新疆癫痫患儿拉莫三嗪血药浓度[J].新疆医学杂志（已录用）
- [2] 马雪,李红健,赵婷,王婷婷,冯杰,于鲁海. MDR1 G2677T/A 基因多态性与癫痫患儿左乙拉西坦血药浓度的相关性研究[J].中国药师, 2022, 25(02): 273-277.

获奖情况:

- 1.2019-2020 学年：获学业二等奖学金

石河子大学硕士研究生学位论文

导师评阅表

研究生姓名	马雪	学制	3
专业	药学	研究方向	临床药学及药物评价
学术评语:			
<p>本文以临床问题为导向,针对拉莫三嗪血药浓度监测,在建立拉莫三嗪血药浓度测定方法的基础上,通过收集癫痫患儿基本情况、给药剂量以及肝肾功等生理指标等信息,进而对可能影响拉莫三嗪血药浓度的因素进行提取、分析、筛选,最终利用GA-BP神经网络成功构建了预测精密度、准确度高的血药浓度预测模型,初步为需要调整LTG剂量或无法监测LTG血药浓度水平的患儿提供浓度预测,在临床中根据患儿情况制定给药方案。</p> <p>本论文实验设计合理,数据齐全,结果可靠,行文流畅,图片清晰,统计处理准确。讨论分析恰当,逻辑性较强,结论可信。其论文达到了硕士学位论文水平。</p> <p>该生在学习期间已修满要求学分,英语及论文发表已达到毕业要求,达到硕士研究生毕业论文水平。</p>			
指导教师签字:  2022 年 06 月 01 日			