

FACULTAD DE FARMACIA

ESTUDIO DE LA CORRESPONDENCIA ENTRE  
LAS FRACCIONES LIBRE Y LIGADA DE ANTICON-  
VULSIVANTES EN UNA POBLACIÓN PEDIÁTRICA.

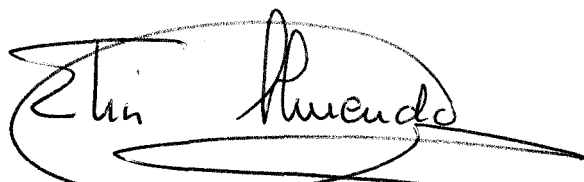
CARMEN E. IRADI MARTINEZ

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

1995

Dra. Elisa Marhuenda Requena, Catedrática de la Universidad de Sevilla y Directora del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica.

CERTIFICA: que la Tesis de Licenciatura "Estudio de la correspondencia entre las fracciones libre y ligada de anticonvulsivantes en una población pediátrica.", presentada por Dña. Carmen E. Iradi Martínez, ha sido realizada en el citado Departamento bajo la dirección del Dr. Joaquín Herrera Carranza, reuniendo los requisitos necesarios.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Elisa Marhuenda', enclosed within a large, stylized oval flourish.

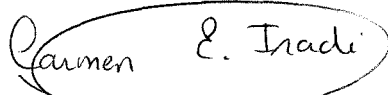
Fdo Dra. E. Marhuenda Requena  
Directora del Dpto. de Farmacia y Tecnología  
Farmacéutica.

11278

T 912

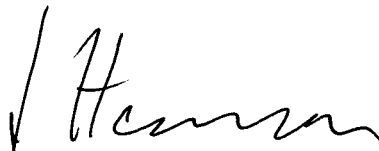
ESTUDIO DE LA CORRESPONDENCIA ENTRE LAS  
FRACCIONES LIBRE Y LIGADA DE ANTICONVULSIVANTES EN UNA  
POBLACION PEDIATRICA.

Tesis presentada para optar al Grado de Licenciada en Farmacia por Dña Carmen E. Iradi Martínez, dirigida por Dr. Joaquín Herrera Carranza. Realizada en los laboratorios del departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla y en el Servicio de Bioquímica Clínica, Departamento de Análisis Clínicos, del Hospital Universitario "Virgen del Rocío" de Sevilla durante los cursos académicos 1993/1994 y 1994/1995.

Carmen E. Iradi

Fdo. Carmen E. Iradi Martínez

Director:

J. Herrera

Fdo. Dr. Joaquín Herrera Carranza.

**A mi madre, in memoriam.**

## Agradecimientos:

A D. Joaquín Herrera Carranza, por su orientación y dirección del trabajo, así como por el ánimo y el impulso prestados en los momentos difíciles.

A D. Jose Luis Serrera Contreras , por su ejemplo personal y profesional, y por su apoyo y cariño continuados.

A Dña. Maria Isabel Peralvo y a todo el personal de la Sección de Monitorización de Fármacos por la inestimable ayuda y dedicación mostrados en el desarrollo del presente trabajo.

A todo el personal clínico del Servicio de Neurología del Hospital Infantil por lo gratificante de su colaboración y el entusiasmo que despliegan en el cuidado de sus pacientes.

A todo el personal del Departamento de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Virgen del Rocío , con cuya ayuda y simpatía siempre he contado.

A Lorenzo, que siempre supo estar ahí.

## **INDICE**

## ÍNDICE

I.- INTRODUCCION.....	1
I.1.- ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS Y CLÍNICOS DE LA EPILEPSIA.....	4
I.1.1.- Definición de la OMS de Epilepsia.....	4
I.1.2.- Clasificación de Epilepsias por la Liga Internacional de Epilepsia. Criterios de inclusión.....	6
I.1.3.- Fisiopatología de las Epilepsias.....	9
I.1.4.- Aspectos farmacológicos de las Epilep- sias. Fármacos anticonvulsivantes.....	10
I.1.4.1.- Carbamazepina.....	11
I.1.4.1.1.- Estructura química .....	11
I.1.4.1.2.- Mecanismo de acción.....	11
I.1.4.1.3.- Farmacocinética.....	13
I.1.4.1.4.- Reacciones adversas e interac- ciones.....	15
I.1.4.1.5.- Aplicaciones terapéuticas.....	17

I.1.4.2.- Fenobarbital.....	18
I.1.4.2.1.- Estructura química.....	18
I.1.4.2.2.- Mecanismo de acción.....	18
I.1.4.2.3.- Farmacocinética.....	20
I.1.4.2.4.- Reacciones adversas e interac ciones.....	21
I.1.4.2.5.- Aplicaciones terapéuticas.....	21
I.1.4.3.- Ácido Valproico.....	22
I.1.4.3.1.- Estructura química.....	22
I.1.4.3.2.- Mecanismo de acción.....	22
I.1.4.3.3.- Farmacocinética.....	23
I.1.4.3.4.- Reacciones adversas e interac ciones.....	24
I.1.4.3.5.- Aplicaciones terapéuticas.....	25
I.2.- MONITORIZACIÓN DE NIVELES PLASMÁTICOS DE FÁRMACOS.....	26
I.2.1.- Interpretación de los niveles plasmáticos.....	27
I.2.2.- Farmacoterapia pediátrica.....	29
I.2.3.- Unión de fármacos a proteínas plasmá ticas y factores que la afectan.....	29
I.2.4. - Métodos de Separación.....	32



II-	MATERIAL Y METODOS.....	35
II.1.-	Muestras de pacientes.....	35
II.2.-	Determinaciones.....	36
II.2.1.-	Proteínas totales, Albúmina y Alfa-1- glicoproteína ácida .....	36
II.2.2.-	Creatinina .....	37
II.2.3.-	Urea .....	37
II.2.4.-	Fármaco total. Descripción del sistema EMIT .....	38
II.2.5.-	Fármaco libre .....	38
II.2.5.1.-	Descripción de la columna de ultra- filtración Amicom.....	39
II.2.5.2.-	Calibradores y Curvas de calibra ción.....	40

III- RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	42
III.1.- Distribución de pacientes.....	43
III.2.- Rango terapéutico de fármaco total y libre .....	43
III.3.- Monoterapia con Valproico.....	45
III.4.- Monoterapia con Carbamazepina.....	48
III.5.- Monoterapia con Fenobarbital.....	52
III.6.- Politerapia con Valproico y Carbama- zepina.....	54
III.7.- Politerapia con Carbamazepina y Fenobarbi- tal.....	57
III.8.- Politerapia con Valproico y Fenobarbi- tal.....	58
III.9.- Politerapia con tres anticonvulsivan- tes.....	59
IV- CONCLUSIONES.....	61
V- BIBLIOGRAFÍA.....	63

## **INTRODUCCION**

## I- INTRODUCCION

Una gran parte de las sustancias farmacológicamente activas, ejercen su acción como consecuencia de su combinación reversible con receptores tisulares<sup>1</sup>, condicionando la concentración del fármaco a este nivel, la intensidad y duración de sus efectos. Debido a la tremenda dificultad de la determinación de este parámetro, se utiliza un índice que correlacione bien con la misma, como es la determinación de los niveles que alcanzan en circulación sistémica.

Uno de los capítulos más brillantes de la moderna farmacocinética es aquel que ha puesto de manifiesto las implicaciones que se derivan de la interacción de los fármacos con las proteínas del plasma sanguíneo<sup>2</sup>.

Se conoce que la mayor parte de los fármacos interactúan en el compartimento vascular, con diversas fracciones de las proteínas del plasma : albúmina, globulinas, alfa-1-glicoproteína ácida, transferrina y lipoproteínas, siendo la primera la que juega un papel más importante en este proceso farmacocinético. Esta interacción con las proteínas depende principalmente, tanto de la cantidad de proteínas, como de la afinidad y grado peculiar de la asociación.

Esta interacción, entre otros hechos destacados, establece un equilibrio dinámico entre la forma libre y la enlazada del fármaco, que es factor clave relativo tanto a la disponibilidad, eficacia, solubilidad, distribución y transporte, depósito y mantenimiento de los niveles sanguíneos, así como a la eliminación .

Como consecuencia principal cabría destacar que la concentración plasmática activa farmacológica, no corresponde a la concentración total del fármaco, sino a la cantidad que existe libre en el plasma, ya que el acceso de los fármacos a los lugares específicos de acción, lo realiza la forma libre, como por ejemplo el caso de los anticonvulsivantes, donde es esta la que atraviesa la barrera hematoencefálica<sup>3</sup>.

Otras dos consecuencias, son particularmente interesantes y merecen consideración especial; son por un lado los desplazamientos de los propios fármacos y moléculas biológicas de sus uniones a las proteínas, bien por otros fármacos y biomoléculas ó incluso por compuestos de origen endógeno y por otro lado, los cambios en el grado normal de interacción fármaco-proteína como consecuencia del estado fisiopatológico del paciente (patrón proteico plasmático, hipoalbuminemia, etc.)<sup>4</sup>.

Uno de los avances más significativos que en los últimos años ha experimentado el tratamiento farmacológico de las crisis epilépticas, en sus distintos tipos y grados, ha sido el análisis y cuantificación de las concentraciones plasmáticas de los distintos medicamentos de este grupo farmacológico<sup>5</sup>.

El objeto del presente trabajo consiste en analizar la fracción de fármaco libre (FL), respecto a la fracción de fármaco ligado a proteínas plasmáticas (FP), correspondiente al grupo farmacológico de los anticonvulsivantes, de un colectivo de pacientes pediátricos, tratados en el Servicio de Neurología Infantil del Hospital Universitario "Virgen del Rocío" de Sevilla, teniendo en cuenta las peculiaridades de esta muestra al tratarse de una población infantil.

## I.1.-ASPECTOS FISIOPATOLOGICOS Y CLINICOS DE LA EPILEPSIA.

### I.1.1.- DEFINICIÓN DE LA OMS DE EPILEPSIA.

La OMS define la epilepsia<sup>6</sup> como una afectación crónica del sistema nervioso central (SNC), que se caracteriza por la aparición de crisis repetidas como consecuencia de una descarga aumentada de las neuronas cerebrales.

La crisis o descarga epiléptica se debe a la existencia de un núcleo o foco neuronal que descarga paroxística, sincrónica e incontroladamente. Esta hiperactividad neuronal, de duración variable, puede quedar circunscrita a una determinada área o bien propagarse y extenderse a áreas vecinas o a áreas distantes del foco original.<sup>6</sup> Por consiguiente en la patogenia de toda crisis debe existir un foco o grupo neuronal hiperactivo y un proceso de propagación más o menos extenso.

En cada crisis se aprecia por una parte una sintomatología clínica, que afecta al estado de conciencia, la actividad motora o la actividad sensorial, dependiendo de la zona cerebral donde radique la hiperactividad neuronal, y por otra parte, unos

signos o patrones detectables en el trazado electroencefalográfico (EEG).

Es preciso diferenciar también los denominados síndromes epilépticos, que se caracterizan por presentar un conjunto de signos y síntomas que, aunque por lo general ocurren de forma conjunta, pueden no tener una etiología o pronóstico similares.

La enorme variedad de signos y síntomas ha dado lugar a formas muy diversas de crisis y síndromes epilépticos, cuya clasificación es importante ya que ayuda a establecer el diagnóstico y su correspondiente tratamiento<sup>7</sup>.



### I.1.2.- CLASIFICACION DE LAS EPILEPSIAS

A lo largo de la Historia se han propuesto innumerables clasificaciones de las epilepsias y síndromes epilépticos según su etiología ,pero muchos autores consideran que la antigua terminología no es suficientemente específica de acuerdo con los tipos de terapia disponibles en la actualidad.

Tras una larga controversia, la que hoy en día parece suscitar mayor interés y consenso es la de la Liga Internacional contra la Epilepsia<sup>7</sup>, que basada en criterios clínicos y electroencefalográficos, ayuda a establecer un diagnóstico más preciso y a elegir el medicamento más adecuado a cada tipo de crisis, además de permitir una comunicación internacional sin confusiones entre los profesionales especialistas, de forma que todos puedan emplear la misma palabra para describir un tipo de crisis concreta.

## CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL DE LAS EPILEPSIAS

### **I-ATAQUES PARCIALES. ( Ataques localizados)**

**A.- Ataques parciales con sintomatología elemental**  
(generalmente sin pérdida de conocimiento).

1. Con síntomas motores (incluidos ataques Jacksonianos).
2. Con síntomas especiales sensoriales ó somatosensoriales.
3. Con síntomas autonómicos.
4. Formas compuestas.

**B. Ataques parciales con sintomatología compleja;**  
generalmente con pérdida de conocimiento (lóbulo temporal ó ataques psicomotores).

1. Solamente con pérdida de conocimiento.
2. Con sintomatología cognoscitiva.

3. Con sintomatología afectiva.
4. Con sintomatología psicosensoial.
5. Con sintomatología psicomotora (automatismo)
6. Formas compuestas.

C. Ataques parciales secundariamente generalizados.

**II.-ATAQUES GENERALIZADOS (simetría bilateral sin acceso local)**

1. Ausencias (petit mal).
2. Epilepsia mmioclónica bilateral masiva.
3. Espasmos infantiles.
4. Ataques clónicos.
5. Ataques tónicos.
6. Ataques tónico-clónicos (grand-mal).
7. Ataques aquinéticos.

**III-ATAQUES UNILATERALES (predominantemente).**

**IV-ATAQUES EPILÉPTICOS NO CLASIFICADOS (por falta de datos).**

### I.1.3.- FISIOPATOLOGIA DE LAS EPILEPSIAS

Puede considerarse que la descarga patológica de un foco es consecuencia de un fracaso en el equilibrio entre mecanismos de carácter excitador e inhibitor, bien por aumento de los primeros o bien por disminución de los segundos<sup>6</sup>.

Los factores que condicionan la aparición de una descarga son :

a) cambios iónicos intra y extracelulares que condicionan la excitabilidad neuronal.

b) modificaciones bruscas e intercríticas del potencial de membrana en forma de cambios paroxísticos de despolarización.

c) modificación en el patrón de influencias a partir de neuronas que liberan aminoácidos neurotransmisores de carácter inhibitor (GABA, glicina) y excitador (glutamato, aspartato) así como otros elementos con función neurotransmisora y neuromoduladora (monoaminas, neuroéptidos).

#### I.1.4.- ASPECTOS FARMACOLOGICOS DE LAS EPILEPSIAS

Según la propia definición de epilepsia, el fármaco antiepiléptico debe actuar deprimiendo la excitabilidad neuronal en el foco de iniciación o mediante bloqueo de los medios de propagación <sup>8,9</sup>.

Esto lo hace a través de varios mecanismos entre los que se encuentran:

- a) estabilización de la membrana celular.
- b) alteración en el transporte de las descargas.
- c) modificación en el tránsito y/o liberación de electrolitos a nivel de la membrana celular.
- d) alteración en la captación y reciclado de los neurotransmisores.

Los fármacos estudiados en el presente trabajo son :

- Carbamazepina.
- Fenobarbital.
- Ácido Valproico.

#### I.1.4.1.-CARBAMAZEPINA.

##### I.1.4.1.1.- ESTRUCTURA QUÍMICA.

La carbamazepina<sup>6</sup> es un iminoestilbeno, derivado de la dibenzoazepina, y cuya estructura está relacionada químicamente por una parte con los antidepresivos tricíclicos del tipo de la imipramina y por otra con la propia de los anticonvulsivantes convencionales como la fenitoína, fenobarbital, etc.

Gracias a su particular estructura química y a sus propiedades de distribución en medios acuosos, la carbamazepina puede caracterizarse como sustancia neutra lipófila. El carácter lipófilo de la molécula es debido a su esqueleto tricíclico y la neutralidad, a la ausencia de grupos ácidos o básicos. El carácter lipófilo de la carbamazepina explica la rápida difusión a través de las membranas y barreras lipoides del organismo y su pronta llegada al lugar de acción.

##### I.1.4.1.2.- MECANISMO DE ACCIÓN.

La carbamazepina muestra dos actividades fundamentales, por un lado una acción antiepiléptica en varios tipos de crisis<sup>10</sup> y por otro una acción analgésica en la neuralgia de trigémino<sup>11</sup> y otras formas dolorosas como la neuropatía diabética y la

desaferentización (miembro fantasma, etc.). Además posee una capacidad de moderar ciertos trastornos neurohormonales como es el caso de la diabetes insípida y en virtud de su efecto anticonvulsivante, neurotropo y psicotropo se ha usado en tratamientos de deshabitación del alcohol<sup>12</sup>.

La acción de la carbamazepina y de su metabolito activo (el epóxido de carbamazepina)<sup>13</sup> es similar a la de la fenitoína aunque no idéntica. Las primeras<sup>14,15</sup> actúan limitando las descargas repetitivas de alta frecuencia relacionadas con los potenciales de acción  $\text{Na}^+$ -dependientes, ya que parece que bloquean el canal cuando se encuentra en forma inactiva, es decir, cuando las neuronas se encuentran despolarizadas. Esta es la situación de las neuronas sometidas a la influencia de un foco de descarga.

También es posible que actúe sobre los canales de  $\text{Na}^+$  presinápticos en las terminaciones nerviosas y así interferir en el proceso de despolarización necesario para facilitar la penetración del  $\text{Ca}^{2+}$  y permitir la liberación de neurotransmisores.

El efecto psicotrópico<sup>16</sup> parece que viene dado por su particular afinidad por las estructuras límbicas y se manifiesta por la activación de la psicomotilidad, por la mejoría de ciertos fenómenos psicopatológicos que se enmarcan dentro de lo que es el síndrome de la alteración psíquica de la epilepsia (lentitud

del pensamiento, perseveración, labilidad anímica, disforia, automatismo y esterotipias), por la repercusión en determinadas formas cognitivas, como la atención y la concentración, y por la mejora en la conducta social, familiar y laboral.

Pero, paradójicamente también se han descrito efectos negativos como eretismo, tendencia a la esterotipia y perseveración en algunos niños retrasados mentales, además de agitación y confusión en otros<sup>17</sup>.

Estos diversos resultados dan cuenta de las variadísimas manifestaciones psicopatológicas que están implicadas en los trastornos epilépticos y dan lugar a la aparición de varias teorías .

Algunos autores interpretan el efecto psicotrópo como una acción timoléptica que dá lugar a estimulación psicomotora, elevación del estado de ánimo e incremento de la actividad. Otros piensan que se trata de un efecto autónomo a nivel de la psique y atribuyen la mejoría psíquica a la reducción de la crisis o a la desaparición de efectos indeseados debidos al empleo anterior de anticonvulsivos tradicionales como fenitoína, fenobarbital y primidona.

#### I.1.4.1.3.- FARMACOCINETICA

Se absorbe con lentitud e irregularidad por vía oral. Las concentraciones plasmáticas máximas de la sustancia



inalterada se alcanzan de 4 a 24 horas después de la toma oral única. Las concentraciones plasmáticas alcanzadas son variables y dependen de la forma farmacéutica empleada<sup>18</sup>.

La carbamazepina se fija en un 70-80% a las proteínas. La concentración de la sustancia inalterada en la saliva refleja la fracción libre del fármaco<sup>6,19</sup>, esto se produce por un mecanismo de ultrafiltración natural y es un buen método de determinación de fracción libre.

Se elimina principalmente por metabolización hepática<sup>20</sup>; una parte se convierte en 10,11-epoxicarbamazepina, cuya actividad antiepiléptica es similar a la de la carbamazepina y llega a alcanzar una concentración plasmática del 30 % y que al igual que ella pasa bien al SNC. Otro metabolito abundante pero inactivo es el transdiol.

La carbamazepina es una poderosa inductora de su propio metabolismo en el microsoma hepático; por consiguiente, su aclaramiento aumenta con el tiempo a lo largo de las primeras semanas de tratamiento. Se considera que se llega a una fase estacionaria de autoinducción al cabo de 20 a 30 días (en monoterapia), momento en que ya se puede medir el nivel plasmático.

La constante de semieliminación de la carbamazepina inalterada en plasma se eleva en promedio a unas 36 horas después de una administración única y tras la administración repetida es

todavía de 16-24 horas, según cuanto dure la medicación, debido a la autoinducción de las enzimas hepáticas.

En los pacientes sometidos a tratamiento concomitante con otros antiepilépticos de efecto inductor, se han detectado valores de semidesintegración de 9 a 10 horas por término medio. Solamente el 2 al 3 % de la dosis administrada una o repetidas veces es eliminada inalterada por la orina.

El margen terapéutico<sup>21</sup> de la concentración plasmática en período de estado estacionario fluctúa de 8 a 12 microgramos/ml en régimen de monoterapia y de 4 a 8 microgramos/ml en régimen de politerapia.

#### I.1.4.1.5.- REACCIONES ADVERSAS E INTERACCIONES

La carbamazepina es en conjunto poco tóxica<sup>22</sup>. Inicialmente puede producir algunas molestias (náuseas, cefalea, mareo, diplopía), que guardan relación con la dosis<sup>17,23</sup> y aunque rápidamente aparece tolerancia es conveniente que el inicio de la pauta de tratamiento sea gradual, empezando con dosis bajas y aumentándolas paulatinamente a lo largo de 10 a 14 días y si es necesario prolongarlo durante varias semanas.

En ocasiones puede aparecer ataxia o diversos tipos de movimientos involuntarios. Puede provocar signos de bloqueo muscarínico (sequedad de boca, retención urinaria, dificultad de

acomodación ocular). En contraste con fenobarbital y fenitoína no suele alterar la capacidad cognitiva y de aprendizaje, por lo que resulta menos peligrosa en niños, aunque a veces produce somnolencia y en pacientes ancianos confusión y agitación.

En casos raros se ha descrito hiponatremia<sup>24</sup> debido a la actividad antidiurética, eventualmente con vómitos, cefaleas y confusión. También está constatada la aparición de cuadros de hipersensibilidad en forma de erupciones cutáneas<sup>25</sup>, fiebre, linfadenopatía, neutropenia o alteraciones hepáticas. También se ha descrito en casos aislados, dermatitis exfoliativa, trombopenia, agranulocitosis, tromboembolia, trastornos de la conducción de estímulos, hepatitis colestásica y proteinuria.

A la hora de iniciar el tratamiento con carbamazepina deben considerarse dos fenómenos hematológicos aparentemente independientes<sup>17</sup>: en primer lugar una leucopenia benigna pero frecuente y, por otro lado, una anemia aplásica con riesgo vital para el paciente, de muy rara presentación. Ambas deben ser vigiladas mediante controles de la fórmula hemática.

La leucopenia benigna, puede ser de carácter transitorio o persistente, y por lo general no requiere la supresión del tratamiento, puede presentar problemas a la hora de distinguirla, en sus etapas iniciales, de la anemia aplásica, que es un efecto secundario idiosincrático, sin relación alguna con la dosis administrada, que tiene su máxima incidencia en los estadios iniciales del tratamiento y que es una complicación potencialmen-

te mortal. Debido a la extremada importancia de este último efecto, se recomienda realizar al menos un recuento leucocitario semanal durante el primer mes y quincenal durante las seis semanas siguientes.

Su teratogenicidad<sup>26</sup> es muy baja comparada con la fenitoína o el fenobarbital y sólo se han descrito pequeñas anomalías en forma de hipoplasia en las uñas.

#### I.1.4.1.5.- APLICACIONES TERAPEUTICAS.

En las epilepsias <sup>10</sup>, su eficacia es máxima en las que cursan con crisis parciales complejas o simples, especialmente las primeras. También es útil en las crisis epilépticas primaria y secundariamente generalizadas con componente tónico-clónico<sup>27</sup>.

#### I.1.4.3.- FENOBARBITAL

El uso del fenobarbital ha disminuido en los últimos años<sup>28</sup> ya que muchos neurólogos coinciden en que, aunque los efectos perturbadores de la función mental pueden aparecer con el empleo de muchos fármacos antiepilépticos, son los barbitúricos los más nocivos en ese sentido.

Es un barbitúrico de acción prolongada utilizado actualmente de forma casi exclusiva por su actividad antiepiléptica. Otros barbitúricos de similar acción son el mefobarbital, el metarbital, y el eterobarbital<sup>29</sup>.

##### I.1.4.3.2.- MECANISMO DE ACCIÓN.

El fenobarbital tiene actividad sedante, hipnótica y anestésica, pero a diferencia de otros barbitúricos como el pentobarbital, donde ambas actividades son inseparables, su actividad antiepiléptica se acompaña de un grado clínicamente tolerable de sedación.

El fenobarbital<sup>6</sup> muestra su máxima eficacia en las crisis generalizadas tónico-clónicas y en las parciales complejas, pero es ineficaz en las ausencias, que puede incluso agravar. Tiene valor limitado en las crisis parciales complejas.

Al igual que la fenitoína, suprime la fase tónica de respuesta al electroshock supramáximo, pero, a diferencia de ella, eleva el umbral del electroshock para producir convulsiones, protege en mayor grado frente a convulsiones cardiazólicas, y no deprime la potenciación posttetánica. Es capaz de deprimir la actividad de ciertos focos epilépticos<sup>30</sup> al tiempo que puede reducir los fenómenos de propagación, lo que indica que actúa sobre neuronas anormalmente activas. Es probablemente el más activo en deprimir los fenómenos de activación propagada (kindling).

A nivel simpático el fenobarbital puede tener :

a) una acción postsináptica, mediante facilitación de la inhibición GABA y reducción de la actividad colinérgica o glutamérgica.

b) una reducción de la entrada de  $Ca^{2+}$  y bloqueo de la liberación de neurotransmisores a nivel presináptico.

c) una acción directa o no sináptica por reducción de las conductancias del sodio y potasio voltaje-dependientes y bloquear las descargas repetidas.

A las concentraciones terapéuticamente antiepilépticas, su acción fundamental parece consistir en facilitar o incrementar la respuesta inhibitoria al GABA y, posiblemente, reducir la respuesta a neurotransmisores excitadores. El fenobarbital interactúa en forma específica con un sitio localizado en el

complejo del receptor GABA-ionóforo de  $\text{Cl}^-$  (sitio del fenobarbital-picrotoxina) gracias a lo cual se incrementa la afinidad del GABA por su receptor. Por tanto se alarga el potencial inhibitor postsináptico, la inhibición presináptica y las respuestas postsinápticas al GABA, lo que parece indicar que se prolonga el tiempo durante el cual el canal se encuentra abierto.

En cuanto a la acción sobre los fenómenos de descargas repetidas inducidas en diversos modelos neuronales, la acción del fenobarbital es inferior a las de las fenitoínas y sólo parece observarse a concentraciones altas como las requeridas para controlar el status epilepticus. Con estas concentraciones, el fenobarbital ejerce otras acciones complementarias: depresión de la actividad neuronal espontánea por interactuar directamente con el canal de  $\text{Cl}^-$ , reducción de la duración de potencial  $\text{Ca}^{2+}$ -dependiente e inhibición del transporte transcelular de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  y de la penetración de  $\text{Ca}^{2+}$  en la terminación sináptica con la consiguiente inhibición de la liberación de neurotransmisores, tanto excitadores como inhibidores.

#### I.1.4.3.3.- FARMACOCINÉTICA.

La vía de elección es la oral. Tiene una larga semivida de eliminación, lo que influye en el largo tiempo requerido para alcanzar niveles terapéuticos estables<sup>31</sup>. Es el antiepiléptico que más se elimina por el riñón de forma activa (30%). La concentración en cerebro llega a ser similar a la de plasma, debido a su afinidad por lípidos y proteínas cerebrales. Posee una gran

capacidad de inducir el metabolismo de otros fármacos lo que es origen de abundantes interacciones.

#### I.1.4.3.4.- REACCIONES ADVERSAS E INTERACCIONES.

Las reacciones dosis-dependientes<sup>17</sup> afectan al SCN y se manifiestan en forma de torpeza, sedación, somnolencia; otras veces se expresan en forma de incapacidad para concentrarse o atender, lo que repercute en el caso de los niños en un pobre rendimiento escolar; puede haber otros signos de hiperactividad o cambios de humor. Dosis muy altas producen intensa sedación y ataxia<sup>32</sup>.



#### I.1.4.4.- VALPROICO.

##### I.1.4.4.1.- ESTRUCTURA QUÍMICA.

El ácido valproico<sup>6</sup> es un ácido carboxílico simple de cadena ramificada que se encuentra estructuralmente relacionado con el ácido gamma-aminobutírico. Su eficacia fué descubierta accidentalmente al ser usado como solvente de otros fármacos antiepilépticos hasta que se comprobó que él mismo tenía actividad antiepiléptica " per se".

##### I.1.4.4.2.- MECANISMO DE ACCIÓN.

El ácido valproico posee actividad antiepiléptica ante distintos tipos de crisis y puede ser considerado un antiepiléptico de amplio espectro ,<sup>6,33</sup>. Esto posiblemente sea debido a:

a) La capacidad de bloquear el mantenimiento de descargas repetidas de alta frecuencia ( se supone que por inhibición de la corriente de  $\text{Na}^+$  o a la de una corriente de  $\text{Ca}^{2+}$  que es  $\text{K}^+$  dependiente).

b) La capacidad de aumentar la actividad inhibidora GABA, ya que el valproato incrementa la concentración cerebral de GABA por inhibir la actividad de sus enzimas metabolizadoras (la semialdehído succínico-deshidrogenasa y la GABA-transaminasa) a lo que se une una acción activadora de la glutámico-descarboxilasa. A pesar de lo anteriormente descrito, parece dudosa esta

asociación causal, ya que son necesarias dosis mayores que las terapéuticas para que se produzca, por lo que se postula o bien que sea un aumento selectivo de GABA en áreas concretas como por ejemplo la sustancia nigra, o bien que sea alguno de sus metabolitos activos, por ejemplo el ácido 2-en-valproico, el que produzca las acciones antes consignadas.

#### I.1.4.4.3.- FARMACOCINÉTICA.

La absorción oral es rápida y su biodisponibilidad es buena. Las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan tras 1 a 4 horas<sup>34</sup>. El volumen aparente de distribución es de 0.2 l.

La unión a proteínas plasmáticas es de un 90 %, teniendo lugar casi exclusivamente con la albúmina, pero esta fracción se vé reducida a medida que la concentración total de valproato aumenta dentro de los límites terapéuticos<sup>35</sup>.

Su semivida es de 8-15 horas, alargándose en pacientes que toman otros antiepilépticos. Si se administra cada 12 horas pueden originarse excesivas fluctuaciones del nivel plasmático ( hasta de más de un 40 %), por lo que conviene administrarlo en 2-3 tomas.

La metabolización es tal, que practicamente no se excreta inalterado por orina o heces. La mayor parte es convertida en el éster del ácido glucurónico y el resto es sometido a metabolismo mitocondrial ( beta-oxidación y gamma-oxidación),

dando metabolitos que pueden ser tan activos o más que el valproato.

#### I.1.4.4.4.- REACCIONES ADVERSAS E INTERACCIONES.

Los efectos secundarios más comunes relacionados con la dosis son malestar gastrointestinal (náuseas, vómitos, diarrea, anorexia) que se pueden evitar tomando el fármaco con las comidas o recubierto con revestimiento entérico y empezando el tratamiento con dosis bajas. También se han descrito efectos relacionados con el SNC (temblor, somnolencia, confusión o irritabilidad).

En cuanto a la controvertida hepatotoxicidad del valproato, hay que distinguir entre el aumento pasajero de enzimas hepáticas (que se produce en un 40 % de los pacientes, sin mayor trascendencia clínica) y la lesión hepática grave, que puede provocar un fallo fulminante hepático<sup>36</sup> con frecuencia mortal, dándose con mayor frecuencia en niños menores de 2 años que están recibiendo politerapia con otros fármacos anticonvulsivantes.

Con cierta frecuencia también se ha producido hiperamonemia<sup>37</sup>, ya que aumenta la producción renal de amonio e inhibe la de nitrógeno. También se han descrito algunos casos de pancreatitis, erupciones, alopecia y estimulación del apetito.

En cuanto a su teratogenicidad<sup>38</sup>, la tasa de casos de

espina bífida está aumentada en niños cuyas madres fueron tratadas con valproato durante el embarazo, así como el riesgo de padecer defectos del tubo neural que está aumentada 20 veces.

Las interacciones entre valproato y fenobarbital están comprobadas<sup>39</sup>. La concentración de fenobarbital en plasma se eleva hasta un 40 % cuando se administra conjuntamente con valproato, posiblemente por inhibición del metabolismo del fenobarbital, ya que aumenta su vida media y la excrección del fármaco inalterado.

El valproato también inhibe el metabolismo de la fenitoína, pero no se observa necesariamente un aumento del nivel plasmático total de fenitoína, ya que simultáneamente se produce un desplazamiento de los lugares de unión de las proteínas, por lo que incluso puede producir un incremento en los niveles de fármaco libre.

Por otro lado diversos fármacos inductores pueden reducir los niveles plasmáticos de valproato.

#### I.1.4.4.5.- APLICACIONES TERAPEÚTICAS.

El valproato es el fármaco de elección en las crisis generalizadas del tipo de las ausencias, mioclonías y crisis atónicas, sobre todo en lactantes y niños pequeños. También ha demostrado ser útil en las crisis tónicas y tónico-clónicas, así como en la prevención de las convulsiones febriles, en caso de no tolerarse el fenobarbital.

## I.2.- MONITORIZACION DE NIVELES PLASMATICOS DE FARMACOS.

El objetivo primordial de cualquier acción terapéutica es conseguir una respuesta deseada, que deberá poder ser medida o valorada de alguna forma. Esto es muy fácil y visible en el caso de algunos fármacos, por ejemplo la tensión arterial en el caso de los antihipertensivos, el dolor en el de los analgésicos, la glucemia en el de los hipoglucemiantes, etc., pero en otros grupos de fármacos se pueden dar una serie de circunstancias y características que dificulten o hagan imposible esta valoración en cuyo caso habrá que recurrir a la cuantificación de los niveles plasmáticos<sup>40</sup>, tal es el caso de los antiarrítmicos, de los aminoglucósidos, de la digoxina, de la teofilina, del litio, etc.

La justificación de la monitorización en el caso de los anticonvulsivantes<sup>41</sup>, viene dada porque no se puede medir el efecto hasta que aparece una convulsión, lo que evidencia un fallo terapéutico que no es en absoluto deseable, ya que son fenómenos graves y potencialmente peligrosos.

Otro apartado que se puede controlar con la monitorización es el cumplimiento<sup>42</sup> por parte del paciente, ya que la no

detección de fármaco evidenciará que el paciente no está tomando la medicación prescrita.

El conocimiento de la concentración plasmática será también de gran utilidad en el caso de sobredosificación<sup>43</sup>, tanto accidental, como suicida.

Un caso especial es el de la fenitoína<sup>44</sup>, cuyo clearnce es dosis-dependiente, lo que puede proporcionar con pequeños cambios de dosis, dramáticos cambios en los niveles plasmáticos, ya que puede saturarse su sistema metabolizador.

Asimismo se pueden prevenir fenómenos de interacciones cuando se administran dos anticonvulsivantes simultáneamente o con otro tipo de terapia de forma concomitante.

#### I.2.1.- INTERPRETACION DE NIVELES PLASMATICOS

La determinación de fármacos indiscriminadamente en fluidos biológicos no tiene valor., ya que un nivel plasmático no es sólo una cifra, sino que requiere múltiples matizaciones y de su interpretación dentro del contexto que rodea al paciente; así, se debe tener conocimiento del tratamiento que está recibiendo el paciente, la dosis y su variación a lo largo de la duración del mismo, intervalo de dosificación, forma farmacéuti-

ca, vía de administración, , si tiene algún tipo de terapia concomitante y si padece alguna otra enfermedad.

Además se debe de tener un perfecto conocimiento de la técnica analítica a emplear<sup>44,45</sup>, de su sensibilidad, especificidad, precisión, y de la existencia de interferencias analíticas.

Por otra parte es imprescindible conocer el tiempo exacto transcurrido desde el momento de la última administración del fármaco hasta la extracción de la muestra<sup>1</sup>. Si esta se realiza inmediatamente antes de la administración de la siguiente dosis, el nivel plasmático estará en su valor más bajo, a esta concentración se la llama "nivel mínimo o nivel valle". Tras administrar la nueva dosis del fármaco, se observa que transcurrido un cierto tiempo, que depende del fármaco y de la vía de administración principalmente, obtenemos una concentración plasmática máxima a la que se denomina "nivel máximo o nivel pico", que en el caso de administración parenteral intravenosa coincide con el final de la inyección.

Además la muestra deberá obtenerse tras haber completado el proceso de distribución y por supuesto, una vez alcanzado el estado de equilibrio estacionario, que es aquel en el que las concentraciones plasmáticas se repiten los mismos valores tras cada administración, lo que significa un equilibrio entre la cantidad de fármaco administrada y la cantidad de fármaco eliminada. Para alcanzar el estado estacionario de cualquier fármaco es necesario que transcurran cinco vidas medias.

### I.2.2.- FARMACOTERAPIA PEDIÁTRICA.

Varios estudios<sup>47,48,49,50</sup> han demostrado que existen marcadas diferencias en la composición del cuerpo y el desarrollo de la función orgánica entre los neonatos y niños comparados con los adultos. Sin embargo, no existe en muchos fármacos que se utilizan, una guía para la dosificación específica para la población pediátrica. Se deberá avanzar todavía mucho en la farmacocinética, farmacodinamia, eficacia comparativa y seguridad de los medicamentos en la infancia, y la monitorización puede ser una magnífica arma para ayudar a evaluar estos parámetros.

### I.2.3.- ASPECTOS FARMACOCINÉTICOS DE LA UNIÓN DE FÁRMACOS A PROTEÍNAS PLASMÁTICAS.

Tras la administración de un fármaco se produce la distribución<sup>1,3</sup> del mismo por la sangre a todo el organismo y al lugar de acción.

El fármaco en sangre puede estar disuelto en plasma, incorporado a las células (en el caso de los anticonvulsivantes no en cantidad apreciable), o unido a las proteínas plasmáticas.



En el caso de la unión a proteínas forman un complejo fármaco-proteína que es reversible. La unión se establece fundamentalmente por puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals y el equilibrio que resulta sigue la ley de acción de masas. Además se asume que el efecto de un fármaco es proporcional a la concentración del mismo en los lugares de acción ( el cerebro en el caso de los antiepilépticos), y esta concentración también está en equilibrio con la plasmática.

Unicamente el fármaco libre puede atravesar las membranas biológicas y es por tanto el responsable de la acción farmacológica. De ahí el enorme interés de monitorizar además de la concentración total, la concentración de fármaco libre, lo que nos daría una idea más ajustada de la respuesta farmacológica que se espera.

La mayoría de los fármacos son ácidos o bases débiles. Los ácidos tienen mayor afinidad por la albúmina plasmática que cuenta con cuatro sitios de unión y los básicos y neutros por la alfa1-glicoproteína ácida, también llamada orosomucoide, cuyo papel fisiológico se desconoce aunque parece estar implicada en coagulación y procesos alérgicos. En menor proporción y sólo en el caso de fármacos muy liposolubles estos se unen a las lipoproteínas. En muchos casos existe una competencia entre la albúmina y la alfa1-glicoproteína por ciertos fármacos que en condiciones normales es de escasa trascendencia clínica.

La unión fármaco-proteína<sup>51</sup> puede estar modificada por

varios mecanismos y factores:

1. Cambios en la concentración de las proteínas ,bien por factores fisiológicos (variabilidad interindividual, edad, sexo, gestación, etc.), bien por factores patológicos (insuficiencia hepática, síndrome nefrótico y otras afecciones que cursan con hipoalbuminemia, así como la elevación de alfa 1-glicoproteína ácida en síndromes inflamatorios).

2. Cambios en la afinidad de las proteínas plasmáticas, relacionados con sustancias endógenas ó con otros fármacos utilizados (por ejemplo la carbamilación que sufre la albúmina en pacientes urémicos, la glicosilación de las proteínas plasmáticas en la diabetes mellitus, la interacción con los ácidos grasos libres aumentados o la acetilación de la albúmina por el ácido acetilsalicílico).

3. Desplazamiento de la unión por sustancias endógenas (bilirrubina, urea, ácidos grasos libres, etc.) ó exógenas (de los cuales los más importantes son los fármacos ácidos que presentan una gran afinidad por la albúmina).

4. Saturación de la unión (debido a que el número de sitios de unión no es ilimitado).

### I.2.3.- MÉTODOS DE SEPARACIÓN.

Los métodos de separación de los fármacos a las proteínas pueden ser de dos tipos<sup>1,52</sup>:

#### **Métodos directos**

Son aquellos en los que para medir la proporción de fármaco sin unir no es necesario separar físicamente el fármaco unido del libre. Entre otros se encuentran :

- Espectrofotometría visible y ultravioleta.
- Dispersión rotatoria óptica.
- Resonancia magnética nuclear.

#### **Métodos indirectos**

Son aquellos en que es necesario separar previamente ambas fracciones. La fiabilidad de estos métodos depende de que la técnica no altere el equilibrio de la unión. Se pueden citar:

- Diálisis de equilibrio.

Se realiza haciendo difundir el plasma a través de una membrana semipermeable que deja pasar el fármaco libre pero no el complejo fármaco-proteína en razón de tamaño. Sus desventajas

son el largo tiempo requerido para algunas sustancias y la posible adsorción a la membrana que depende de la naturaleza y concentración del fármaco.

#### -Filtración en gel

La solución pasa a través de un gel que actúa como filtro según su peso molecular. Altera la unión a proteínas.

#### -Ultracentrifugación

La sedimentación de los solutos está determinada por su peso molecular y su tamaño, así las proteínas quedarían en el fondo y los fármacos al ser más pequeños quedarían en el sobrenadante. Este método sería tanto más inexacto cuanto mayor fuera el peso molecular del medicamento.

#### -Ultrafiltración

Es el usado en el desarrollo del presente trabajo y está detallado en el apartado de material y métodos.

Una mención especial merece el hecho de que en el organismo existen una serie de líquidos biológicos, tales como la saliva o el L.C.R., que se producen por ultrafiltración natural al pasar por unas barreras fisiológicas. Si medimos la concentración de fármaco en estos líquidos, esta corresponderá

casi en su totalidad a la forma libre del fármaco, es por ello que algunos autores , preconizan la medida de los niveles en la saliva, como una buena aproximación que además resulta no invasiva y muy adecuada sobre todo en el caso de los niños.

## **MATERIAL Y METODOS**

## II-MATERIAL Y METODOS

### II.1.- MUESTRAS DE PACIENTES.

Un total de 26 muestras de pacientes pediátricos en monoterapia y politerapia se recogieron en tubos de sangre no heparinizada, con separador de silicona, centrifugados dentro de las 2 horas siguientes a la extracción. El suero obtenido se almacenó a  $-20^{\circ}$  hasta el análisis.

En todos los pacientes, las determinaciones séricas se realizaron una vez alcanzado el equilibrio estacionario, lo que ocurre al cabo de 5 veces la semivida del medicamento considerado.

La tabla 1, recoge los tiempos necesarios para que se alcance el estado estacionario con algunos agentes antiepilépticos, así como los intervalos posológicos habituales establecidos en función de la semivida de eliminación.

MEDICAMENTO	SEMIVIDA PLASMÁTICA (h)	INTERVALO POSOLÓGICO (h)	EQUILIBRIO ESTACIONARIO (días)
CARBAMAZEPINA	35(*)	8	12
FENOBARBITAL	120-150	12-24	30
FENITOINA	12-50	12-50	5
VALPROATO SÓDICO	8-15	8-15	1-1.5

(\*)-En tratamientos crónicos disminuye a 10-15 horas.

El momento óptimo de la extracción de sangre para la determinación de los niveles, es inmediatamente antes de la administración de una nueva dosis, lo que representa la concentración mínima en el equilibrio estacionario ( $C_{\min}^{ss}$ )<sup>1</sup>.

## II.2.- DETERMINACION DE PROTEINAS TOTALES, ALBUMINA Y ALFA-1-GLICOPROTEINA ACIDA.

La determinación de estos parámetros en el suero de los pacientes se realizó en el sistema Array de Beckman Instruments, Galway, Ireland; este método utiliza anticuerpos monoclonales contra cada proteína para la formación de inmunocomplejos y su



detección por nefelometría cinética, midiendo la velocidad de la luz dispersa producida por las partículas suspendidas en la solución de complejos formados durante la reacción antígeno-anticuerpo. Se usaron los kits de reactivos de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

### II.2.3.-DETERMINACION DE CREATININA.

Se realizó en un Hitachi 747 con reactivos de Boehringer Mannheim, por el método de Jaffé, que se basa en el hecho de que la creatinina en solución alcalina forma con el picrato un complejo coloreado. Se mide la velocidad de desarrollo de color. Junto con la urea, este parámetro se usa para evaluar la función renal del paciente.

### II.2.4- DETERMINACIÓN DE UREA.

Al igual que el anterior se realizó en el Hitachi 747, siguiendo un método cinético de lectura ultravioleta que se basa en la acción de la enzima ureasa sobre la urea para producir amoníaco y ácido carbónico. El amoníaco liberado se hace reaccionar con ácido alfa-cetoglutarico en presencia de deshidrogenas glutámica. La disminución de la absorbancia a 340 nm, correspondiente a la oxidación de NADH a NAD, es proporcional a la concentración del amoníaco.

#### II.2.4.- DETERMINACION DE LAS CONCENTRACIONES TOTALES DE ANTIEPILEPTICOS

Se determinaron en el Cobas Mira, usando los reactivos Emit 2000<sup>R</sup> de la casa Syva Co. San José CA, 95135 USA. El análisis Emit<sup>R</sup>2000 es una técnica de inmunoanálisis enzimático homogéneo que se basa en la competencia entre el fármaco presente en la muestra y el fármaco marcado con la enzima glucosa-6-fostato deshidrogenasa por los sitios de unión del anticuerpo. La actividad de la enzima disminuye cuando ésta se une con el anticuerpo, y en consecuencia la concentración del fármaco en la muestra puede medirse en función de la actividad enzimática. La enzima activa transforma a la nicotinamida adenín nucleótido (NAD) en NADH, lo que ocasiona un cambio en la absorbancia que puede medirse espectrofotométricamente. La G6P-DH sérica endógena no interfiere ya que la coenzima funciona sólo con la enzima bacteriana de *Leuconostoc mesenteroides* que se emplea en el análisis.

#### II.2.5.- DETERMINACIONES DE FÁRMACO LIBRE.

Las determinaciones de fármaco libre se realizaron usando los mismos reactivos que para el fármaco total, pero dado que la concentración de fármaco libre es mucho menor que la de fármaco total, se realizaron curvas de calibración ajustadas al rango de concentraciones que esperábamos encontrar.

Los ensayos se realizaron a Temperatura ambiente, ya que la estimación de los valores de fármaco libre está influenciada por la temperatura<sup>53</sup>.

#### II.2.5.2.- DESCRIPCION DE LAS COLUMNAS DE ULTRACENTRIFUGACIÓN AMICOM.

Para la separación de la fracción libre del fármaco se usaron las columnas MPS-1 Centrifree™ micropartition system de Amicon Division, W.R., Grace and Co. 24 Cherry Hill Drive Danvers, MA 01923, que producen una filtración convectiva<sup>54</sup> a través de una membrana anisotrópica, hidrofílica YMT; esta membrana posee dos capas distintas: Una superficie densa y delgada (0.1-1.5 mm) y una subestructura de canales progresivamente abiertos, de tal forma que cualquier especie capaz de pasar a través de los poros de la superficie (cuyo tamaño está controlado por el fabricante) puede libremente pasar la membrana.

La fuerza que acelera la filtración está proporcionada por una centrifugación a 1000-2000 + g, consiguiendo unas presiones de transmembrana por encima de 106 psi (7.2 atm). Las especies macromoleculares mayores que el poro de membrana (cuyo corte molecular es de 500 daltons) son cuantitativamente retenidas en la superficie de la membrana, mientras que el ultrafiltrado que contiene la fracción libre se recoge en una copa.

La extremada permeabilidad selectiva de la membrana se demuestra por la retención de más de un 99.9% de las proteínas del suero y de menos de un 5% de L-thyroxina.

El uso de una centrífuga con cabezal de ángulo fijo<sup>6.1</sup> proporciona el control de polarización necesario para minimizar la potencial interacción proteína-proteína, que artefactaría los resultados. El ángulo impide el apilamiento de la proteína retenida en la superficie de la membrana ya que esta densa capa se lanza contra el borde exterior y allí permanece acumulada.

La concentración de fármaco libre resulta inalterada en el ultrafiltrado con respecto al no filtrado, ya que el volumen total de suero permanece constante.

La temperatura a la que se centrifuga debe permanecer constante.

#### II.2.5.1.- CALIBRADORES Y CURVAS DE CALIBRACIÓN.

Al ser los rangos de fármaco libre mucho menores que los de fármaco total, y no existir en el mercado calibradores específicos, se procedió a ajustar las curvas de calibración. Para ello se partió de los calibradores comerciales, de la casa Syva, diluyendolos con el calibrador 0, hasta obtener las concentraciones deseadas y procediendo a calibrar el aparato con los mismos. Se realizó un estudio de Sensibilidad y Precisión,

tanto intra como interensayo con resultados que lo hacen un buen método para aplicar.

## **RESULTADOS Y DISCUSION**

### III.- RESULTADOS.

#### III.1.- DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES.

El número total de pacientes estudiados fué de 25, 10 niños y 15 niñas; de ellos 17 fueron tratados en régimen de monoterapia y 8 en régimen de politerapia, de los cuales 7 recibían 2 anticonvulsivantes y 1 recibía 3.

TABLA 1.	FÁRMACOS	Nº DE PACIENTES
MONOTERAPIA	Valproico	7
	Carbamazepina	7
	Fenobarbital	3
POLITERAPIA	Valp./Carbam.	5
	Fenob./Carbam.	1
	Valp./Fenob.	1
	Valp./Carbam./Fenob.	

De los fármacos estudiados, el más utilizado de todos, como consecuencia de la prescripción médica fué el ácido valproico seguido de la carbamazepina y en menor medida del fanobarbital; la fenitoína, no fué prescrita en ningún caso debido su especial toxicidad en niños, ya que en éstos sólo se emplea en ciertos tipos de epilepsias resistentes.

### III.2.- RANGOS TERAPEÚTICOS.

En la tabla 2 se puede ver que proporción de fármaco está ligada a las proteínas plasmáticas y cual está libre, según la literatura.

TABLA 2.	UNIÓN A PROTEÍNAS PLASMÁTICAS (%)	FRACCIÓN LIBRE DE FÁRMACO (%)
CARBAMAZEPINA	65-85	15-35
FENOBARBITAL	45-50	50-55
FENITOÍNA	88-92	8-12
VALPROICO	89-95	5-11

En la siguiente tabla (3) , se pueden observar los rangos terapéuticos de los distintos anticonvulsivantes, tanto en su forma total como en la libre; esta última está calculada aplicando los porcentajes de forma libre al rango terapéutico del fármaco total . Uno de los objetivos del presente trabajo es averiguar si nuestros resultados entran dentro de dicho rango terapéutico teórico y si tienen una concordancia con el estudio electroclínico del paciente.



## RANGOS TERAPEÚTICOS DE LOS ANTICONVULSIVANTES

TABLA 3.	FÁRMACO TOTAL	FÁRMACO LIBRE
CARBAMAZEPINA	M: 8-12 microg/ml P: 4-8 microg/ml	1.2-4.2 microg/ml 0.6-2.8 microg/ml
FENOBARBITAL	15-40 microg/ml	5-22 microg/ml
FENITOÍNA	10-20 microg/ml	0.8-2 microg/ml
VALPROICO	50-100 microg/ml	2.5-11 microg/ml

M: Monoterapia.

P: Politerapia.

### III.3.- MONOTERAPIA CON VALPROICO.

En la tabla 4 se recogen los resultados obtenidos de este grupo de pacientes.

TABLA 4.- GRUPO DE PACIENTES TRATADOS CON VALPROICO EN MONOTERAPIA							
VALP TOTAL	VALP LIBRE	(%)	ALB	PT	ALFA- 1-GLI	UREA	CREA
126	43.6	34.6	2590	6.8	104	38	0.6
77	16.2	21.0	3200	6.4	50.7	51	0.7
87	13.1	15.0	3570	9.7	69.2	36	0.6
58	8.9	15.3	4890	7.9	45.9	20	0.8
83	15.4	18.5	4210	8.8	66.7	25	0.7
44	14.6	33.2	3900	8.1	110	33	0.6
74	18.2	24.6	3800	7.9	52.5	38	0.6

Con respecto a las variables recogidas en la tabla anterior, una vez realizado el análisis estadístico se observan los siguientes resultados:

TABLAS	VAL TOT	VAL LIB	RELACI%	PT	ALB	ALFA1G
MEDIA	81.125	21.45	25.475	7.675	3757.5	66.125
S.D.	25.0396	13.3391	9.897	1.2848	680.204	28.048
MÍN.	44	8.9	15	5.8	2590	30
MÁX.	126	43.6	41.6	9.7	4890	110
RANGO	82	34.7	26.6	3.9	2300	80
C.V.	30.8655	62.1869	38.8499	16.7401	18.1026	42.417
E.S.M.	8.8528	4.7161	3.4991	0.45425	240.487	9.9166
ICM (P	63.7734	12.2065	18.6167	6.7847	3286.14	46.688
<0.05)	98.4766	30.6935	32.3333	8.5653	4228.85	85.561

Con respecto al fármaco total, tanto la media como todos los parámetros excepto los dos extremos ( 44 y 126 ) se encuentran dentro del rango terapéutico.

En cuanto al fármaco libre, todos los valores, excepto uno, son mayores de lo esperado. La relación porcentual entre fármaco libre y ligado es mucho mayor en todos los casos. Esto coincide con lo apuntado en algunos estudios , como el de Hurst<sup>55</sup>, donde se considera que esta variación puede tener como causa variaciones poblacionales.

Para ver si tanto el Valproico total, como el libre, siguen una distribución normal, aplicamos el test de Kolmogorov-Smirnov, con los resultados que se recogen en la tabla 6 :

TABLA 6.

Diferencia máxima teórica :	0.41 ( P< 0.1 )  0.454 ( P< 0.05 )
Diferencia máxima observada:	Val total: 0.15725 Val libre: 0.34625. Relación%: 0.177442.

Es decir, no se aprecian diferencias significativas, y por tanto sigue una distribución normal.

También se procede a realizar estudios de correlación, obteniéndose los siguientes resultados (tabla 7) :

CORRELACIÓN	COEF.COR	ERR EST	LIM. INF	LIM.SUP	N
FTOTAL/FLIBRE	0.81404	0.23712	0.25648	0.9651	8
FTOTAL/ALB	-0.66629	0.30443	-0.93294	0.07237	8
FLIBRE/PT	-0.67227	0.30223	-0.93433	0.06158	8

En cuanto al tipo de patología de este grupo de pacientes, es variada, predominando las crisis parciales, aunque también hay crisis secundariamente generalizadas y crisis mioclónicas . Todos los pacientes presentaron un buen control electroclínico. Para monitorizar el posible daño hepático que puede producir el Valproico se procede a la determinación regular de enzimas hepáticas estando aumentadas en tres de los casos.

III.4.- MONOTERAPIA CON CARBAMAZEPINA.

En este grupo se obtuvieron los siguientes resultados:

TABLA 8.- GRUPO DE PACIENTES TRATADOS CON CARBAMAZEPINA EN MONOTERAPIA							
CARB TOTAL	CARB LIBRE	(%)	PT	ALB	ALFA-1-GLI	UREA	CREA
9.1	2.2	24.1	6.3	3910	50	10	0.3
9.0	2.3	25.8	6.5	4010	56	15	0.25
8.9	2.9	23.7	4.3	2370	70	12	0.5
18.6	2.7	14.5	5.2	2450	40.7	30	0.6
19.5	2.8	14.3	4.7	2430	46.6	45	0.8
13.6	2.3	17.3	5.9	2420	43.8	20	0.5
5.7	1.6	28	7.0	3320	61	32	0.4

Una vez realizado el análisis estadístico se obtuvieron los resultados que se recogen en la tabla 9:

TABLA 9	CBZT	CBZL	(%)	PT	ALB	ALF1G
MEDIA	12.56	2.416	21.9	5.685	2858	59.7
DESV.TIP.	5.624	0.4875	7.7624	0.9737	554.1	27.48
MINIMO	5.7	1.6	14.3	4.3	2370	40.7
MÁXIMO	19.5	2.9	32.5	6.9	3527	120
RANGO	13.8	1.3	18.2	2.6	1157	79.3
CEF.VAR.	44.75	20.172	35.364	17.125	19.387	46.0
ERR, EST.MED	2.296	0.1990	3.169	0.3680	209.45	10.38
INT. CONF.	8.066	2.0266	15.738	4.9644	2447.8	39.37
MED. (p<0.05)	17.03	2.8068	28.161	6.0407	3268.9	80.08

Se observa que en cuanto al fármaco total, existen tres valores que estarían dentro de los niveles tóxicos y uno que estaría en nivel ineficaz; sin embargo, si observamos los niveles de fármaco libre, se ve que todos estarían dentro del margen terapéutico. Todos los pacientes presentaron un buen control electroclínico de las diversas patologías que les afectan, a excepción de una paciente con síndrome polimalformativo con agenesia del cuerpo calloso y vermis, que sufría un síndrome convulsivo resistente y la que hubo que cambiar el tratamiento.

Los resultados del test de Kolmogorov-Smirnov, se recogen en la tabla 10 :

Diferencia máxima teórica:	0.468 ( p < 0.1 )  0.519 ( p < 0.05 )
Diferencia máxima observada:	Carbz. total: 0.23118 Carbz. libre: 0.16074. Relación %: 0.22543.  P.T.: 0.18123.  ALB.: 0.16981.  ALFA1G.: 0.17864.

Para todos los parámetros estudiados, no se observan diferencias significativas, por lo tanto según el test de Kolmogorov-Smirnov, la población sigue una distribución normal.

En cuanto al estudio de correlación se observaron los siguientes resultados (tabla 11) :

CORRELACIÓN	COEF.COR	ERR.EST	LIM.INF	LIM.SUP	N
FTOTAL/FLIBR	0.64434	0.38237	-0.35053	0.9559	7
FTOTAL/PT	-0.57349	0.36636	-0.92645	0.31609	7
FTOTAL/ALB	-0.66865	0.33254	-0.94558	0.44433	7
FLIBRE/PT	-0.94999	0.13966	-0.9928	-0.6919	7
FLIBRE/ALB	-0.74702	0.29731	-0.96002	0.01381	7

### III. 5.- MONOTERAPIA CON FENOBARBITAL.

En este grupo de pacientes, no hemos podido realizar estudios estadísticos, debido al pequeño tamaño de la muestra, ya que la tendencia es usar el fenobarbital solamente en casos muy restringidos.

TABAL 12.- GRUPO DE PACIENTES TRATADOS CON FENOBARBITAL EN MONOTERAPIA

FENO TOTAL	FENO LIBRE	(%)	PT	ALB	ALFA-1-GLI	UREA	CREA
53.9	23.2	43	5.3	3910	50	10	0.3
80	39.0	49.5	6.5	2750	100	10	0.28
20	11.0	55	7.0	3680	129	38	0.7

Se observa como dos de los tres pacientes presentan niveles tóxicos de fármaco total, aunque en el primer caso el paciente no presentó sintomatología de intoxicación, ya que aunque las proteínas totales estaban bajas, la albúmina estaba alta y por tanto ligaba gran parte del fenobarbital, siendo por tanto los niveles plasmáticos de fármaco libre muy próximos a la normalidad.



En el segundo caso es evidente los niveles tan altos alcanzados, tanto de fenobarbital total, como del libre, lo que concuerda con la sintomatología del paciente, que ingresó en Urgencias con un cuadro agudo de intoxicación.

El tercer caso, era un paciente tratado de crisis de inhibición de origen vagal, que presentaba un buen control.

### III.6.- POLITERAPIA CON VALPROICO Y CARBAMAZEPINA.

Aunque la tendencia actual en el tratamiento de las epilepsias es el uso exclusivo de un solo anticonvulsivante, en algunos tipos es necesario recurrir a la asociación de dos o más.

La asociación de dos antiepilépticos más usada es la ve Valproico y Carbamazepina. En la tabla 13 se recogen los resultados obtenidos con esta asociación :

TABLA 13.- PACIENTES EN POLITERAPIA TRATADOS CON CARBAMA  
ZEPINA Y VALPROICO

CAR TOT	CAR LIB	%	VAL TOT	VAL LIB	(%)	PT	ALB	ALF 1-G	URE	CRE
9.7	2.3	24	100	42	42	5.8	3910	45	30	0.4
7.3	1.7	24	35	4.4	12	6.9	3110	72	28	0.4
7.4	1.8	24	25	3.2	13	5.8	2390	156	25	0.6
4.9	1.7	38	95	31	33	8.3	5080	96	34	0.6
5.5	1.6	29	35	7.3	21	6.9	3370	50	50	0.5

Una vez sometidos al análisis estadístico, se obtuvieron los resultados recogidos en la tabla 14 :

TABL14	CBZT	CBZL	%	VALT	VALL	%	PT	ALB	A1G
MEDIA	6.86	1.82	27.8	58	17.5	24.1	5.68	2858	93
DESTIP	2.02	0.27	6.44	36.3	17.6	12.7	0.97	554	45
MIN	4.4	1.6	23.3	25	3.2	12.5	4.3	2370	50
MAX	9.7	2.3	38.6	100	41.6	41.6	6.9	3527	156
RANGO	5.3	0.7	15.3	75	38.4	29.1	2.6	1157	105
C.V.	29.5	15.2	23.1	62.6	100	53.1	17.1	19.3	48
EESM	0.90	0.12	2.88	16.2	7.88	5.71	0.36	209	22
I.C.	5.08	1.57	22.1	26.1	2.04	12.8	4.96	2447	49
P<0.05	8.63	2.06	33.4	89.8	32.9	35.2	6.40	3268	138

En cuanto a la Carbamazepina total, solo hay un valor por encima del rango terapéutico, mientras que si vemos los valores de Carbamazepina libre, todos ellos entrarían dentro del rango. En cuanto al Valproico total, solo dos valores estarían dentro del rango terapéutico, mientras que los otros tres estarían en nivel ineficaz, pero si tenemos en cuenta los valores de fármaco libre, los dos anteriores pasarían a estar en nivel tóxico, y los tres a estar en nivel terapéutico.

Se aplica el test de Kolmogorov-Smornov, con los resultados que se recogen en la tabla siguiente:

Diferencia máxima teórica:	0.509 ( p < 0.1 )  0.563 ( p < 0.05 )
Diferencia máxima observada:	Carbz total: 0.19502 Carbz libre: 0.32873 Relación %: 0.29684 Valp total: 0.33665 Valp libre: 0.31856 Relación%: 0.21117 P.T. : 0.23834 ALB. : 0.17894 ALFA1G. : 0.22727

En todos los casos la población sigue una distribución normal.

En cuanto a los estudios de correlación, se recogen en la tabla 16:

CORRELACIÓN	COEF COR	ERR ESTD	LIM INF	LIM SUP	N
CBZT/CBZL	0.84139	0.31202	-0.15868	0.98928	5
CBZT/PT	-0.8563	0.29818	-0.99036	0.1062	5
VALPT/VALPL	0.98339	0.10478	0.76386	0.99895	5
VALPT/ALB	0.84872	0.30533	-0.13356	0.98982	5

III.7.- POLITERAPIA CON CARBAMAZEPINA Y FENOBARBITAL.

En esta paciente se observa que ambos anticonvulsivantes se encuentran dentro del rango terapéutico , tanto en su forma libre, como en la total, consiguiéndose un buen control electroclínico de las crisis epilépticas secundarias a un traumatismo craneoencefálico en la infancia.

TABLA 17.- PACIENTE TRATADOS EN POLITERAPIA CON CARBAMAZEPINA Y FENOBARBITAL

CAR TOT	CAR LIB	(% )	FEN TOT	FEN LIB	(%)	PT	ALB	ALF 1-G	URE	CRE
6	1.6	27	39	7.5	53	7.0	3100	70	30	0.8

III.8.- POLITERAPIA CON VALPROICO Y FENOBARBITAL.

El paciente presenta un cuadro secular a una hemorragia intracraneal en periodo neonatal, que cursa con retraso madurativo, hidrocefalia, hemiparesia doble y crisis epilépticas secundarias.

TABLA 19.- PACIENTE TRATADO EN POLITERAPIA CON VALPROICO Y FENOBARBITAL

VAL TOT	VAL LIB	(%)	FB TOT	FB LIB	(%)	PT	ALB	A1 G	URE	CRE
64	13	18	23	19	80	7.8	4320	86	33	0.5

Como puede observarse en la tabla 19, ambos medicamentos se encuentran dentro del margen terapéutico, tanto en su forma total, como en la libre, consiguiendose un óptimo control de las crisis.

### III-9.- POLITERAPIA CON TRES ANTICONVULSIVANTES.

Esta paciente padece una epilepsia mioclónica severa, descrita por Dravet en 1981, que cursa con convulsiones febriles y posteriormente con crisis epilépticas de diversas etiologías, que desafortunadamente son rebeldes tanto a anticonvulsivantes solos, como asociados y que conlleva un progresivo deterioro neuropsicológico.

Así, a pesar de que los tres anticonvulsivantes si tomamos como referencia los valores plasmáticos totales estarían dentro de un rango terapéutico óptimo ( como se recoge en la tabla 20 ), si lo que estudiamos son los niveles de fármaco libre vemos que tanto el fenobarbital y en menor medida el valproico están por encima de este rango, lo que explicaría el decaimiento e hipotonía por la que ingresó esta paciente. Tras ajustar la dosis y aún estando los tres fármacos dentro del nivel terapéutico, no se consiguió el control electroclínico de la paciente, debido a la resistencia al tratamiento de esta enfermedad, pero al menos resulta útil la monitorización para evitar fenómenos de toxicidad.

PACIENTE TRATADO EN POLITERAPIA CON FENOBARBITAL,  
CARBAMAZEPINA Y VALPROICO.

	TOTAL	LIBRE	(%)	PT	ALB	A-1G	UREA	CREA
FB	34.4	27.2	79.8	7.4	3140	98.1	24	0.6
CBZ	3.2	0.9	28.1					
VAL	59	15.6	26.4					



## **CONCLUSIONES**

#### IV.- CONCLUSIONES.

1.- Se muestra necesaria la monitorización de anticonvulsivantes por las siguientes razones:

1.a.- ya que se trata de medicamentos en los que debido a su estrecho margen terapéutico se pasa con cierta facilidad de los niveles ineficaces a los niveles tóxicos.

1.b.- no existe una buena correlación entre la dosis administrada y la respuesta terapéutica obtenida, debido a la gran variabilidad interindividual de los niveles plasmáticos.

1.c.- es deseable mantener un buen control para prevenir las crisis, ya que estas no son previsibles exclusivamente por la clínica, y su aparición supone un sufrimiento cerebral que está agravado en el caso de los pacientes pediátricos, ya que no solo puede comprometer su desarrollo intelectual, sino en algunos casos hacer peligrar la vida del paciente.

1.d.- así se controla el cumplimiento de la prescripción.

2.- Aunque la monitorización de fármaco total puede ser muy orientativa en muchos casos, debido a las discrepancias observadas y descritas en este estudio, que concuerdan con las descritas en la literatura, y teniendo en cuenta que la fracción libre es la responsable de la respuesta terapéutica y en su caso de los efectos tóxicos, es deseable monitorizar también la forma libre de los anticonvulsivantes.

3.- Se observa que, en general, la fracción libre determinada se desplaza hacia arriba o hacia abajo del margen de referencia en relación inversamente proporcional a los microg/dl de albúmina determinados, salvo excepciones que podrían ser debidas a un cambio de afinidad de la albúmina o a fenómenos de desplazamiento.

4.- Relacionando la forma libre determinada y la concentración de albúmina con la concentración total del fármaco, puede valorarse la conveniencia o no de ajustar la dosis.

5.- Es conveniente profundizar en el estudio de la farmacocinética, posología y sensibilidad de la población pediátrica con objeto de establecer terapéuticas más seguras.

## **BIBLIOGRAFIA**

**V.- BIBLIOGRAFIA.**

1.- Flórez J, Armijo JA, Mediavilla A. Leyes generales y aplicaciones de la farmacocinética. En: Flórez J, Armijo JA, Mediavilla A, ed. Farmacología Humana. Pamplona, Eunsa 1987;77-100.

2.- Perrin JH. Bonds between drugs and plasma components. En : Tillement JP, Lindenlaub E, ed. Protein binding and drug transport. Stuttgart Schattauer Verlag, 1986; 115-127.

3.- Benet LZ, Sheiner LB. Pharmacokinetics: The dynamics of drugs absorption, distribution, and elimination. En Goodman A, Goodman LS, Rall TW, Murad F, ed. The Pharmacological Basis of Therapeutics. Nueva York, Macmillan Publishing Company 1985; 3-34.

4.- Barre J, Didey F, Delion F, Tillement JP: Problems in therapeutic drug monitoring: free drug level monitoring. Ther Drug Monit. 10(2) 1982.

5.-Penry JK and Newmark ME: The Use of Antiepileptic Drugs. Annals of Internal Medicine. 1979,90; 207-18.

6.- Flórez J, Armijo JA, .Fármacos antiepilépticos y anticonvulsivantes. En: Flórez J, Armijo JA, Mediavilla A, ed. Farmacología Humana. Pamplona, Eunsa 1987; 425-437.

7- Gastaut, H: Classification of the epilepsies. Proposal for an international classification. *Epilepsia* 10 (Suppl): s14-s21, 1969

8.- Woodbury EM, Penry JM, Pippenger CE. Antiepileptic drugs. Nueva York. Raven Press. 1982.

9.- Holtknapp JH, : Epilepsy: diagnosis and treatment. *N C Med J*, 1992, 53 (5); 221-4.

10.- Defuzio G, Lepore V, Specchio LM, Pisani F, Livrea P. The influence of electroencephalographic focus laterality on efficacy of carbamazepine in complex partial and secondarily generalized tonic-clonic seizures. *Epilepsia*. 1991 32(5); 706-11.

11.- al Musaeed AA, Zakrzewska JM, Bain BJ. Carbamazepine and folic acid in trigeminal neuralgia patients. *J R Soc Med*. 1992, 85 (1); 19-22.

12.- Mitina LV, Kholkhov AL. Evaluation of the efficacy of carbamazepine in the alcoholic postintoxication syndrome. *Farmacol Toxicol*, 1991, 54 (5); 60-2.

13.- Petit P, Lonjon R, Cociglio M, Sluwzeaka A, Blayac JP, Hue B, Alric R, Pouget R. Carbamazepine and its 10-11-epoxide metabolite in acute mania: clinical and pharmacokinetics correlates. *Eur J Clin Pharmacol*. 1991, 41 (6) 541-6.

14.- Besser R, Horning K, Theison M, Rothacher G, Kramer G. EEG changes in patients during introduction of carbamazepine. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1992. 83 (1), 19-23.

15.- Van der Meyden CH, Bartel PR, Sommers DK, Blom M, Becker P, Erasmus S. Effects of acute doses of controlled-release carbamazepine on clinical, psychomotor, electrophysiological and cognitive parameters of brain function, *Epilepsia*, 1992 32(2); 335-42.

16.- Meador KJ, Loring DW, Huh K, Gallagher BB, King DW. Comparative cognitive effects of anticonvulsants. *Neurology* 1990 40 (3 Pt 1); 391-4.

17.- Porter RJ. Toxicity of antiepileptic drugs. Meeting of the Danish Epilepsy Society, Copenhagen 1985.

18.- Bialer M. Pharmacokinetic evaluation of sustained release formulations of antiepileptic drugs: clinical implications. *Clin Pharmacokinetic.* 1992, 22 (8); 11-21.

19.- Schramm W., Annesley T.M., Siegel G.J., Sackellares J.C., Smith R.H.. Measurement of phenytoin and carbamazepine in an ultrafiltrate of saliva. *Therapeutic drug monitoring.* 13:452-460. 1991.

20.- Ramsay RE, Mac Hanus DQ, Guterman A, Briggles V, Vazquez D,. Carbamazepine metabolism in humans: effect of

concurrent anticonvulsivant therapy. Ther Drug Monit.1990. 12 (3); 235-41.

21.- Ichikou N, Ieiri I, Higchi S, Hiratak K, Yamada H, Aoyama T. Analysis of the factors influencing antiepileptic drug concentrations of carbamazepine. J Clin Pharm Ther.1990.15 (5); 337-49.

22.- Tibballs J.Acute toxic reaction to carbamazepine: clinical effects and serum concentrations. J Pediatr 1992, 12 (2);295-9.

23.- Leary PM, Luss K. The prevalence of adverse reactions to anticonvulsivants in children with epilepsy. J Med Reserch.1989 75 (11);535-7.

24.- Kastner T, Friedman DL, Pond WS,.Carbamazepine-induced hyponatremia in patients with mental retardation. Am J Ment Retard, 1992, 96 (5); 536.

25.- Garavelli PL, Azzini M. Skin rash induced by carbamazepine. Minerva Med. 1990, 81 (7-8 Suppl);115-6.

26.- Bag S, Behari M,Ahuja GK, Karmarkar MG. Pregnancy and epilepsy. J Neurol 1989, 236 (5);311-3.

27.-Mattson RH, Cramer JA, Collins JF. A comparison of



valproate with carbamazepine for the treatment of complex partial seizures and secondarily generalized tonic-clonic seizures in adults. *N Engl J Med*, 1992, 327 (11); 765-71.

28.-Brignolio F, Verza L, Barichello M. Evaluation of effectiveness of monotherapy in the treatment of epilepsy. *Minerva Med.* 1991 82 (12);859-62.

29.- Barzaghi N, Gatti G, Manni R, Galimberti CA, Zucca C, Perucca E, Tartar A. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of etobarbital and phenobarbital in normal volunteers. *Eur J Drug Metab Pharmacokinetic*, 1991 16(1);81-7.

30.- Watson NY, Treiman DM. Phenobarbital treatment of status epilepticus in a rodent model. *Epilepsy Res* 1989 4 (3); 216-21.

31.- Barzaghi N, Gatti G, Manni R, Galimberti CA, Zucca C, Tartara A, Perucca E. Time-dependent pharmacodynamic effects of phenobarbital in humans, *Ther Drug Monit* 1989 4 (3);661-6.

32.-Theodore WH, Porter RJ, Raubertas RF. Seizures during barbiturate withdrawals relation to blood level. *Ann Neurol* 1987 22 (5); 644-7.

33.-Giroud M, Dumas R. Treatment of status epilepticus by sodium valproate. *Neurophysiol Clin* 1989 18 (1);21-32.

34.-Miljkovic B, Pokraja M, Vaaragic V, Levic Z. Single dose of valproic acid in adult epileptic patients. Int J Clin Pharmacol Res 1991 11 (3); 137-41.

35.- Garcia MJ, Dominguez-Gil A. Effect of dose on the kinetic behaviour of valproic acid: modifications in plasma protein-binding. Eur J Drug Metab Pharmacokinetic 1991 Spec Na 3; 239-42.

36.- Binek J, Harry A, Egloff B, Heer M. Acute fatal liver insufficiency due to valproic acid therapy. Schweiz Med Wochenschr 1991 121 (7); 288-33.

37.- Zaccara G, Campostrni R, Paganini M, Messou A, Kalenza J, Anatoli G, Zappoli R. Long term treatment with sodiun valproate: monitoring of venous ammonia , concentrations and adverse effects. Ther Drug Monit 1987 9 (1);34-40.

38.- Wegner C, Nau H. Alterations of embryonic folate metabolism by valproic acid during organogenesis: implications for mechanism of theratogenesis. 1992 42 (4);17-24.

39.- Bourgeois BF, .Pharmacologic interatios between valproate and another drugs. Ann J Med 1988 84 (1A); 29-33.

40.-Finn AL, Taylor WI, Kane WJ, .General principles: practical applications of serum concentration monitoring, in: Taylor WJ, Finn AL, eds: Individualizing Drug Therapy. Voll.

Nueva York, Cross, Twonsend, Frank Inc.1981.p 1-30.

41.- Beghi E, Trevison D, Tognon G. Use of plasma level for antiepileptic drug monitorig in clinical practise. Ital J Neurol Sci. 1992 13 (1); 59-65.

42.- Rudd P, Ahmed S, Zachary V, Barton C, Bonduelle D. Issues in patient compliance: the search for therapeutic sufficiency. Cardiology.1992 80 Suppl 1; 2-10.

43.- Wyllie E, Wyllie R. Routine laboratory monitoring for serious adverse effects of antiepileptic medications: the controversy. Epilepsia 1991 Suppl 5; 574-9.

44.- Fagioklino P, Savio E, Stareczek S. Linear relationships in systems with non linear Kinetics. Eur J Drug Metab Pharmackineic.1991 Spec N° 3; 485-96.

45.- Kaplan L, Pesce A, Soldin S.Toxicología y monitreo de drogas terapéuticas. En:Kaplan L, Pesce A.Química clínica.Teoría, análisis y correlación.Panamericana.Buenos Aires 1984.1578-1586.

46.- Howanitz J, Howanitz P, Henry J.B. Toxicología y control de fármacos terapéuticos. En Todd, Sandford, Davidsohn. Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio.Salvat Barcelona 1985.477-484.

- 47.- Nahata MC. Advances in paediatric pharmacotherapy. J Clin Pharm Ther 1992 17 (3);141-6.
- 48.- Fritz D.E. Análisis del margen terapéutico en el niño epiléptico.Meeting of the Danish Epilepsy Society, Copennaghe 1985.
- 49.- Hartley R, Lucocck MD, Forsythe WI, MacLain B. Facrtors influencing plasma level/dose ratios of carbamazepine and its major metab;bolites in epileptic children. Ther Drug Monit. 1990 12 (5); 438-44.
- 50.-Murphy JV. Valproate Monotherapy in children. Am J Med 1998 84 (1A); 17-22.
- 51.- Erill S: Alteraciones en la fijación de fármacos a las proteínas plasmáticas y su repercusión terapéutica. En: Laporte JR, eds: Avances en terapéutica. N°14 Barcelona. Salvat, 1986.p 20-9.
- 52.- Sebille B. Methods of drug protein binding determinatios. Fundam Clin Pharmacol.1990. 4 Suppl 2P 151s-161s.
- 54.- Ratnaraj N, Goldberg VD, Hjelm M. Temperature effects on tthe estimation of free levels of phenytoin, carbamazepine and phenobarbitone.
- 54.- Rigopoulos,P. (1970), Self-Cleaning Ultrafilter.

U.S. Patent 3,488,768.

55.-Hurst DL. Expanded therapeutic range of valproate.

Pediatr Neurol.1987.3 (6)p 342-4.