

مقایسه غلظت‌های آزاد و تام فنی توئین تزریقی و ارتباط آن با سطح سرمی آلبومین در بیماران دچار ترومای سر

مجید شهرتی^۱، Ph.D.، مهدی رشیدی فیروز آبادی* M.D.

چکیده

هدف: مقایسه غلظت‌های آزاد و تام فنی توئین تزریقی و ارتباط آن با سطح سرمی آلبومین در بیماران دچار ترومای سر جهت تدوین الگوی منطقی تجویز فنی توئین در بیماران.
روش بررسی: ده بیمار بزرگسال دچار ترومای سر بستری در بخش مراقبتهای ویژه که به عنوان درمان پروفیلاکسی تشنج فنی توئین دریافت می‌کردند، مورد مطالعه قرار گرفته، سطح غلظت آزاد و غلظت تام فنی توئین و همچنین غلظت آلبومین همزمان آنها اندازه‌گیری شد.
یافته‌ها: غلظت سرمی فنی توئین اندازه‌گیری شده به وسیله HPLC و FPIA تفاوت معنی‌داری نشان نداد. این در حالی است که همبستگی معکوس قابل توجهی بین سطح آزاد فنی توئین سرمی و غلظت آلبومین سرمی وجود داشت ($r^2=0.85$). همچنین بین سطح تام فنی توئین در بیماران و غلظت فنی توئین محاسبه شده بر اساس سطح سرمی آلبومین اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P<0.05$).
نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد پایش سطح سرمی فنی توئین در بیماران با ترومای سر بهتر است بر مبنای جزء فعال دارو (کسر آزاد فنی توئین) و نه کسر تام دارو انجام شود.

واژه‌های کلیدی: غلظت آزاد، فنی توئین، آلبومین، ترومای سر.

مقدمه

کسر آزاد دارو و به دنبال آن افزایش کلیرانس فنی توئین تام (۱،۲) برای توجیه این پدیده پیشنهاد شده است. در شرایط معمول تقریباً ۹۰٪ از فنی توئین گردش خون به پروتئینهای پلاسما علی‌الخصوص آلبومین متصل است (۵). مطالعات حاکی از آن است که اتصال فنی توئین به آلبومین نیز در بیماران بدحال دچار تروما دستخوش تغییراتی می‌شود که نتیجه آن تغییر سطح آزاد پلاسمایی فنی توئین خواهد بود (۶). مطالعه‌ای دیگر پایش هر دو سطح تام و آزاد فنی توئین را در بیماران دچار ترومای سر توصیه می‌کند (۱). اندازه‌گیری سطح آزاد پلاسمایی فنی توئین به جای سطح تام دارو در بیماران بستری در ICU در برخی مطالعات

فنی توئین یک داروی ضد تشنج است که به طور گسترده‌ای برای پیشگیری از تشنج در بیماران شدیداً بدحال تجویز می‌گردد. این دارو دارای فارماکوکینتیک غیر خطی بوده و تجویز آن نیازمند پایش مداوم سطح پلاسمایی دارو و تنظیم دوز است (۱،۲). بر پایه مطالعات قبلی، دستیابی به سطوح درمانی فنی توئین در بیماران دچار ترومای نورولوژیک با استفاده از پروتکل‌های پیشنهادی معمول، مشکل است (۳). مکانیسم‌های متعددی از جمله افزایش وابسته به استرس متابولیسم کبدی دارو (۴)، افزایش کلیرانس دارو به علت وضعیت هیپرمتابولیک یا هیپرکاتابولیک بیمار و افزایش

دریافت مقاله: ۸۴/۱۰/۷، اصلاح مقاله: ۸۵/۵/۲۶، پذیرش مقاله: ۸۵/۷/۲۶

? استادیار مرکز تحقیقات آسیبهای شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله (عج)، تهران - ایران

* مرکز تحقیقات آسیبهای شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله (عج)،

پلاسمای جدا شده به روش فوق به دو قسمت تقسیم شده، یک بخش جهت اندازه‌گیری غلظت تام فنی توئین توسط دستگاه HPLC و Éclair و بخش دیگر توسط صافی اولترافیلتر (Amicon Centrifree , cut off= 5000 Dalton) جهت اندازه‌گیری کسر آزاد فنی توئین تصفیه شد.

مقدار اندازه‌گیری دارو. استخراج نمونه‌های پلاسمایی برای اندازه‌گیری غلظت تام فنی توئین توسط روش دپلاریزه کردن توسط استونیتریل صورت گرفت و سپس ۵۰ میکرو لیتر از محلول استخراج شده به دستگاه HPLC جهت اندازه‌گیری غلظت تام تزریق گردید و ۵۰ میکرو لیتر از نمونه های اولترا فیلتر شده توسط فیلتر Amicon نیز به صورت مستقیم جهت اندازه‌گیری غلظت آزاد به دستگاه HPLC تزریق شد. شرایط دستگاه HPLC مورد استفاده شامل دتکتور اسپکتروفوتومتر 486 UV ، ستون Techsphere C8 (3 µm , 150 ×4.6 mm) با لوپ 50 µL بود.

فاز متحرک استونیتریل. آب به نسبت (۷۳/۴:۲۶/۶) با PH=2.5 می‌باشد که با سرعت 1.4 ml/min جریان و در طول موج 210 nm نمونه‌ها خوانده شد و درجه حرارت ستون در طول اندازه‌گیری غلظت نیز ۳۰ درجه سانتی گراد بود. غلظت تام فنی توئین نیز توسط دستگاه (Merck VITALAB Éclair) اندازه‌گیری شد که اساس کار آن بر پایه فلورسانس پلاریزیشن ایمنوآسی (FPIA) می‌باشد. برای محاسبه غلظت آزاد فنی توئین (FUP) معادله I استفاده شده است:

$$\text{معادله I: } FUP = 1 / (1 + 2.1 \times Alb)$$

غلظت نرمال آلبومین (Alb) 4.3 gr/dl می‌باشد که تغییر در غلظت آلبومین، تغییر در کسر آزاد فنی توئین را به همراه خواهد داشت. حجم توزیع یا (volume of distribution) vd نیز متعاقب تغییر در میزان آلبومین دچار تغییر می‌شود که از معادله II محاسبه می‌گردد:

$$\text{معادله II: } vd (l/kg) = 2.8 / Alb$$

غلظت فنی توئین محاسبه شده نیز از معادله III به دست می‌آید

$$\text{معادله III: } C_{\text{normal}} = C_{\text{observed}} / (0.2 \times Alb + 0.1)$$

پیشنهاد شده است (۷،۸). مطالعه حاضر برای ارزیابی بیشتر این موضوع و بررسی وجود همبستگی احتمالی میان غلظت آزاد فنی توئین و سطح پلاسمایی آلبومین در بیماران مبتلا به ترومای سر طراحی شده است.

روش بررسی

انتخاب بیماران. در این مطالعه بیماران بزرگسال دچار ترومای سر بستری در بخش ICU که برای پیشگیری از تشنج فنی توئین دریافت می‌کردند، وارد مطالعه شدند. معیارهای ورود این بیماران ترومای شدید سر، سن بالای ۱۸ سال و GCS (Glasgow Coma Scale) کمتر از ۸ بود. بیماران مبتلا به برادی کاردی، بلوک درجه دو و سه، افت فشار خون قابل توجه و همچنین بیماران مبتلا به بیماری کبدی یا کلیوی (بیلی روبین تام بیش از 3 mg/dl , ALT > 120 µg/l، کراتینین سرمی بیش از 2 mg/dL) از مطالعه حذف شدند. همچنین بیمارانی که سابقه استفاده اخیر از فنی توئین یا داروهایی که با متابولیسم یا اتصال فنی توئین به پروتئینها تداخل داشتند و یا بیمارانی که به استفاده همزمان از والپوریک اسید، فنوباریتال، سولفونامیدها یا تئوفیلین نیازمند بودند، وارد مطالعه نشدند. پروتکل مطالعه پیش از انجام طرح توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد تصویب قرار گرفت.

نحوه تجویز دارو و نمونه‌گیری. فنی توئین سدیم (شرکت داروپخش) با غلظت 25 mg/ml در نرمال سالین رقیق شده، با سرعت 25 mg در دقیقه به طور وریدی به بیماران تجویز گردید (حداکثر سرعت مجاز 50 mg/min می‌باشد). دوز نگهدارنده فنی توئین در ۲۴ ساعت اول بستری به بیماران تجویز و علائم حیاتی هر ساعت کنترل گردید. در هر نوبت، نمونه پیک نیم ساعت پس از اتمام انفوزیون فنی توئین و نمونه تراف نیم ساعت قبل از تجویز دوز بعدی گرفته شد. نمونه‌های خونی وریدی جمع‌آوری شده، در لوله‌های هپارینه نگهداری و به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه با دور سه هزار در دقیقه سانتریفوژ و سپس پلاسمای بیمار جدا می‌شد.

یافته‌ها

(FPIA) immunoassay اندازه‌گیری شد که مقایسه غلظت پلاسمایی اندازه‌گیری شده به وسیله HPLC و FPIA تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد.

غلظت تام و آزاد فنی‌توئین توسط هر دو روش کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا (HPLC) و fluorescence polarization

جدول ۱. مشخصات دموگرافیک بیماران

Patient no	Age (Years)	Gender (Male/female)	Weight (kg)	GCS	Diagnosis	outcome
1	40	M	62	4	frontal contusion	³ D/C
2	55	M	63	5	Trauma-lateral ventricle hemorrhage	³ D/C
3	55	M	60	5	Trauma-Epidural bleeding	³ D/C
4	60	M	60	5	MVA ² -ventricle hemorrhage	³ D/C
5	52	F	70	4	MVA ² -subdural hemorrhage	³ D/C
6	41	M	65	7	Trauma-Epidural hemorrhage	³ D/C
7	24	M	65	8	Trauma-intraparenchymal hemorrhage	³ D/C
8	45	F	70	5	Trauma-subarachnoid hemorrhage	³ D/C
9	50	F	70	6	Closed –head injury	³ D/C
10	55	F	65	5	Skull fracture	³ D/C

¹Glasgow Coma Scale ²Motor vehicle accident ³Discharge

جدول ۲. تغییرات غلظت پلاسمایی آلبومین و کسر آزاد فنی‌توئین

Patient #	Albumin concentration (g/dl)			Free percent of phenytoin			
	1 st day	2 nd day	Next days	1 st day	Next days	%unbound	by HPLC
1	4.00	3.40	-0.60	0.106	0.123	16.0	14.6
2	4.30	4.30	0.00	0.099	0.099	0.0	7.2
3	4.00	3.70	-0.30	0.106	0.114	7.5	10.1
4	4.10	3.70	-0.40	0.104	0.114	9.0	10.4
5	4.10	4.20	0.10	0.104	0.102	-2.0	8.2
6	4.00	3.60	-0.40	0.106	0.117	10.0	10.6
7	4.10	3.60	-0.50	0.104	0.117	12.5	10.6
8	3.40	2.70	-0.70	0.123	0.149	21.0	17.1
9	3.70	3.20	-0.50	0.114	0.129	13.1	12.3
10	4.30	4.30	0.00	0.099	0.099	0.0	11.1
Mean	4.00	3.67	-0.33	0.106	0.116	8.7	11.2
±SD	0.27	0.51	0.28	0.007	0.015	7.5	2.8

جدول ۳. مقایسه غلظت تام و آزاد فنی توئین و حجم توزیع (vd) پیش بینی شده و تنظیم شده

Patient no	Administered Dose (mg/d)	Total PHT ^a (mg/L)	Free PHT ^a (mg/L)	Trough (mg/L)	Adjusted (mg/L) ^b	Predicted vd (L/kg)	Adjusted Vd (L/kg) ^c	Plasma pH
1	250	4.10	0.60	2.00	5.52	0.63	0.82	7.30
2	300	5.533	0.40	1.90	5.70	0.60	0.65	7.45
3	300	6.92	0.70	2.95	8.20	0.65	0.75	7.30
4	300	8.59	0.90	3.12	10.20	0.63	0.75	7.35
5	250	4.85	0.40	2.10	5.15	0.67	0.66	7.35
6	250	5.20	0.55	2.21	6.30	0.65	0.77	7.34
7	250	5.18	0.55	1.73	6.30	0.64	0.77	7.30
8	250	5.84	1.00	2.50	9.12	0.66	1.00	7.10
9	300	8.90	1.10	2.40	12.00	0.63	0.87	7.30
10	300	8.50	0.95	2.30	8.85	0.65	0.65	7.35
Mean	275.00	6.36	0.72	2.32	7.73	0.64	0.77	7.31
±SD	26.35	1.74	0.26	0.447	2.30	0.02	0.11	0.09

(a) غلظت تام و آزاد فنی توئین اندازه گیری شده به وسیله HPLC

(b) غلظت تعدیل شده فنی توئین تام بر پایه سطح آلبومین

(c) حجم توزیع تعدیل شده بر پایه سطح آلبومین

اطلاعات دموگرافیک بیماران در جدول ۱ آورده شده است. تغییرات آلبومین، غلظت آزاد فنی توئین در روز اول و روزهای بعد و غلظت آزاد و تام فنی توئین در بیماران شرکت کننده در مطالعه در جداول ۲ و ۳ آمده است. از مجموع بیماران مورد مطالعه، هفت بیمار دچار کاهش سطح آلبومین پلاسما (متوسط 0.5 g/dl) شدند. تنها در یک بیمار سطح آلبومین پلاسما افزایش و به دنبال آن سطح آزاد فنی توئین کاهش یافت. سطح بالای آلبومین در دو بیمار دیگر هیچگونه تغییری نشان نداد. اگر چه نزدیک به نیمی از بیماران مورد مطالعه دوزهای یکسان از فنی توئین دریافت می کردند، غلظت‌های پلاسمایی فنی توئین در آنها با یکدیگر اختلاف داشت که این اختلاف ممکن است مربوط به تفاوت‌های فردی بیماران در متابولیسم و ظرفیت اتصال به پروتئین باشد.

فنی توئین پائین تر از سطوح درمانی باشد، سطح غلظت آزاد فنی توئین نیز کم می شود. نتایج مطالعه یک همبستگی (غیرمستقیم) معکوس قوی بین سطح پلاسمایی آلبومین و غلظت فنی توئین آزاد را نشان داد ($r^2=0.85$). با این حال بر اساس یافته‌های این مطالعه، همبستگی ضعیفی بین غلظت‌های تام و آزاد فنی توئین وجود داشت. ($r^2=0.60$).

بحث

در شرایط معمول، حدوداً ۹۰٪ فنی توئین در حال گردش، متصل به پروتئین‌های پلاسما (اکثراً آلبومین) می باشد. بنابراین کاهش غلظت آلبومین که در بیماران دچار ترومای سر در این مطالعه مشاهده شد، می تواند توجیه کننده تغییرات سطح سرمی آزاد فنی توئین باشد. از آنجائی که تنها کسر آزاد دارو از لحاظ فارماکولوژیک فعال می باشد، این پدیده ممکن است باعث تغییراتی

بر پایه نتایج مطالعه حاضر، هرگاه که غلظت تام پلاسمایی

متابولیسم به همراه کاهش اتصال به پروتئین مسؤوول افت غلظت تام فنی توئین در بیماران مورد مطالعه بوده است.

در مطالعه جدیدتری از همین محققان افزایش کسر آزاد فنی توئین و کاهش غلظت تام فنی توئین مشاهده شد (۱۴). در مطالعه حاضر نشان داده شد که در بیماران ترومایی شدیداً بدحال، غلظت تام فنی توئین پائین تر از حد انتظار است. هفت بیمار دچار کاهش غلظت پلاسمایی آلبومین و به دنبال آن افزایش کسر آزاد فنی توئین شدند. این یافته‌ها همسو با دیگر مطالعات انجام گرفته در این زمینه است (۱۱) که نشان می‌دهد دوزهای بالاتری از فنی توئین برای حصول سطوح درمانی دارو در حوادث و تروماهای نورولوژیک مورد نیاز می‌باشد (۳). با این حال، برخلاف مطالعات پیشین، سطح آزاد غلظت فنی توئین در بیماران، دچار تغییرات متفاوت و نامحسوس گردید.

در بیماران مطالعه ما کسر آزاد فنی توئین دچار افزایش شد. همچنین سطح آزاد دارو در روز آخر نسبت به روز اول افزایش نشان داد. همچنین مطالعه ما نشان داد که کسر آزاد فنی توئین با کاهش PH پلازما افزایش می‌یابد اما این یافته به مطالعات بیشتری برای تأیید نیاز دارد.

نتیجه‌گیری. در پایان با توجه به نتایج مطالعه پیشنهاد می‌کنیم در بیماران بستری در ICU که احتمال ایجاد تغییرات در قابلیت اتصال به پروتئین و تغییرات میزان آلبومین در آنها وجود دارد (مثلاً بیماران دچار ترومای سر) غلظت آزاد فنی توئین اندازه‌گیری شود، چرا که در این بیماران احتمالاً تغییراتی در سطح آزاد فنی توئین بوجود می‌آید، حتی اگر سطوح غلظتهای تام فنی توئین نسبتاً ثابت باشد.

References

1. Griebel ML, Keams GL, Feser DH. Phenytoin protein binding in pediatric patients with acute traumatic injury. *Crit Care Med* 1990; 18: 285-391.
2. Bouer LA, Edwards WAD, Dellinger EP. Importance of un bound phenytoin serum levels in

در وضعیت درمانی بیماران شود. همان طور که قبلاً نیز ذکر شد، بین غلظت آزاد و تام فنی توئین ارتباط ضعیفی وجود داشت که این دو یافته (یعنی کاهش سطح آلبومین حین درمان این بیماران و فقدان همبستگی بین غلظت آزاد و تام فنی توئین) اندازه‌گیری کسر آزاد فنی توئین حین درمان را الزامی می‌سازد، زیرا اختلاف قابل توجهی بین سطح محاسبه شده فنی توئین پلازما بر پایه غلظت آلبومین و غلظت پلاسمایی فنی توئین اندازه‌گیری شده به وسیله HPLC وجود داشت (جداول ۲ و ۳).

برخی مطالعات پیشنهاد می‌کنند که اندازه‌گیری و پایش هر دو سطح آزاد و تام فنی توئین در بیماران دچار ترومای سر ارجح می‌باشد (۱). برخی از محققان نیز اندازه‌گیری کسر آزاد فنی توئین به جای سطح تام دارو را پیشنهاد کرده‌اند (۷،۸). این پیشنهادها تأیید کننده نتایج مطالعه حاضر می‌باشد. Bouer و همکاران در مطالعه خود مشاهده نمودند که گرچه سطح تام فنی توئین در بیماران دچار ترومای سر کمتر از سطح درمانی بود اما سطح آزاد فنی توئین در همین بیماران در سطوح درمانی باقی مانده بود (۲). این یافته برخلاف نتایج مطالعه ما می‌باشد زیرا در بیماران مورد مطالعه ما هم سطح تام و هم سطح آزاد فنی توئین پائین تر از سطح درمانی مورد انتظار بوده است. آنها مشاهدات خود در زمینه افزایش کسر آزاد فنی توئین را به کاهش آلبومین در بیماران دچار ترومای سر نسبت دادند در صورتی که بیماران مطالعه ما دچار تفاوت‌های متغیر و غیر قابل توجیه در سطح غلظت آزاد فنی توئین شدند که به نظر می‌رسد که بیش از یک مکانیسم در توجیه این مشاهدات دخیل باشد. علاوه بر افزایش غلظت آزاد فنی توئین به دنبال کاهش پروتئینهای پلازما، افزایش کلی کلیرانس (۱۲،۹) و افزایش V_{max} به دنبال افزایش متابولیسم کبدی وابسته به استرس احتمالاً در پدید آمدن این مشاهدات نقش دارند (۴).

نتایج دو مطالعه دیگر درباره فارماکوکینتیک فنی توئین در بیماران ترومایی بزرگسال منتشر شده‌اند. Boucher و همکارانش افزایش غلظت فنی توئین آزاد بین روزهای اول و هفتم در نه بیمار از مجموع ده بیمار مورد مطالعه را نشان دادند (۱۳). از این میان سه بیمار غلظت پلاسمایی آلبومین پائین تر از مقادیر پیش‌بینی شده داشتند. آنها چنین نتیجه‌گیری کردند که افزایش

- head trauma patients. *J Trauma* 1983; 23: 1058-1060.
3. Zielman S, Mielck F, Kahl R, Kazmaier S, Sydow M, Kolk J. A rational basis for measurement of free phenytoin concentration in critically ill trauma patients. *Ther Drug Monit* 1994; 16: 139-44.
4. Boucher RA, Kuhi DA, Fabian TC. Effect of neurotrauma on hepatic drug clearance. *Clin Pharmacol Ther* 1991; 50: 487-497.
5. Levy RH, Schmidt D. Utility of free level monitoring of epileptic drugs. *J Epilepsia* 1985; 26: 199-205.
6. Driscoll DL, McMabon M, Blackburn GL, Bistran BR. Phenytoin toxicity in a critically ill hypoalbuminemic patient with normal serum drug concentrations. *Crit Care Med* 1988; 16: 1248-1249.
7. Bachman K, Fomey RBJ, Voeller K. Monitoring phenytoin in salivary and plasma ultrafiltrates of pediatric patients. *Ther Drug Monit* 1983; 5:325-329.
8. Peterson GM, Mclean S, Aldous S. Plasma protein binding of phenytoin in 100 epileptic patients. *Br J Clin Pharmacol* 1983; 14: 298-30.
9. Winter ME, Tozer TN. Phenytoin. In: Evans WE. (eds), *Applied Pharmacokinetics, Principle of Therapeutic Drug Monitoring*, 3rd edition, Vancouver, Applied therapeutics, 1992: 1-30.
10. Anderson GD, Pak E, Kenneth KW, Griffy KG, Temkin NR, Wilensky AJ, Winn HR. Reversed winter-tozer equation for normalized phenytoin concentrations intrauma and elderly patients with hypoalbuminemia. *Ann Pharmacother* 1997; 31: 279-284.
11. Cwik MI, Liang M, Deyo K, Andrews E, Fischer J. Simultaneous rapid high performance liquid chromatographic determination of phenytoin and its products fosphenytoin in human plasma and ultrafiltrate. *J chromatogr* 1997; B693: 407-441.
12. Nation RL, Evans AM, Miline RW. Pharmacokinetic drug interactions with phenytoin (part I). *Clin Pharmacokinet* 1990; 18: 37-60.
13. Boucher BA, Rodman JH, Fabian TE. Disposition of phenytoin in critically ill trauma patients. *Clin Pharmacokinet* 1987; 6: 881-887.
14. Boucher BA, Rodman JH, Jaresko GS. Phenytoin pharmacokinetic in critically ill trauma patients. *Clin Pharmacol Ther* 1988; 44: 675-683.