

Redakcja przeprasza Autorów za przypadkowy, nieprawidłowy wydruk jednostek zakresów stężeń zamieszczonych w publikacji, niezgodny z przesłanym manuskrypcem autorów. Pracę postanowiliśmy wydrukować ponownie.

Roman Wachowiak*, Jarosław Tobolski*, Dorota Klimaszuk**

Diagnostyka chemiczna zatruc karbamazepiną i jej przydatność w opiniodawstwie toksykologiczno-sądowym

Chemical diagnosis of carbamazepine intoxication and its usefulness in toxicological jurisprudence

* Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego

Kierownik: prof. dr hab. med. Zygmunt Przybylski

** Z Zakładu Opieki Zdrowotnej – Jeżyce, Szpital im. Fr. Raszei w Poznaniu, Oddział Chorób Wewnętrznych i Ostrych Zatruc im. dr Wandy Błęńskiej

Zatrucia karbamazepiną (Amizepin, Tegretol), stanowią ważny problem toksykologii klinicznej i sądowej, który występuje coraz częściej niezależnie od prowadzonej powszechnie monitorowanej terapii. W pracy przedstawiono metodę analizy jakościowo-ilościowej karbamazepiny (CBZ) obok jej metabolitów: 10,11-epoksydu (CBZ-E) i 10,11-dihydroksykarmamazepiny (CBZ-DH) metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). W programie badań uwzględniono: izolację badanych związków z osocza krwi z użyciem stałej fazy ekstrakcyjnej SPE Absolut Nexus Varian, ustalenie zakresów kalibracyjnych oraz walidację parametrów analitycznych. Dyskusja dotyczyła oceny wyników rutynowych badań diagnostycznych przypadków intoksykacji, sprawdzających przydatność praktyczną opracowanej metody.

Intoxication with carbamazepine (Amizepine, Tegretol) represents a significant problem of clinical and forensic toxicology, which frequently develops independently of the commonly used monitored therapy. In the study a technique of qualitative and quantitative analysis applied to carbamazepine (CBZ) as well as its metabolites carbamazepine 10, 11-epoxide (CBZ-E) and 10, 11-dihydroxycarbamazepine (CBZ-DH) in biological material using high – performance liquid chromatography (HPLC) was presented. The studies also involve isolation of studied compounds using solid phase extraction, SPE-Absolut NEXUS (Varian), establishment of calibration

range and validation of analytical parameters. This was followed by a discussion of results obtained in routine diagnostic investigations in cases of intoxications, corroborating practical suitability of the designed technique.

Słowa kluczowe: karbamazepina i jej metabolity, izolacja SPE, analiza jakościowo-ilościowa, Metoda HPLC

Key words: carbamazepine and its metabolites, SPE isolation qualitative and quantitative analysis, HPLC method

WPROWADZENIE

Szerokie stosowanie karbamazepiny (CBZ) w neurologii, głównie w leczeniu padaczki, stwarza niebezpieczeństwo licznych przypadków zatruc notowanych w toksykologii klinicznej i sądowej [1, 2, 4, 6, 9, 12, 16, 20, 23, 27-31]. Toksykokinetyczny przebieg wielu przypadków zatruc z udziałem CBZ charakteryzuje się zróżnicowaną specyfiką, której towarzyszą często kontrowersyjne interpretacje przyczynowo-skutkowe. Zróżnicowana osobniczo jakość procesów biotransformacyjnych wymaga zawsze uwzględnienia addytywnego efektu farmakologicz-

nych oddziaływań aktywnego metabolitu 10, 11-epoksydu karbamazepiny (CBZ-E), którego udział jest szczególnie ważny w zatruciach klinicznych jak i w tanatologicznej interpretacji przyczyny śmierci nagłej, gwałtownej [3, 7, 8, 11, 13, 14, 15, 21, 26].

W postępującym procesie metabolizacji CBZ zasadnicze znaczenie należy przypisać stanowi klinicznemu pacjenta, a w szczególności funkcjom czynnościowym wątroby odpowiedzialnym za przebieg jej biotransformacji zachodzącej często w długotrwałym i złożonym układzie interakcji, wynikającym często z politerapii. Konsekwencją interakcji CBZ z innymi lekami przeciwpadaczkowymi, przebiegającej zarówno u osobnika zdrowego, jak i przypadku osobniczej dysfunkcji narządowej, są często obserwowane niepożądane toksyczne działania interferencyjne, prowadzące zarówno do wzrostu stężenia we krwi czy jego obniżenia w następstwie autoindukcji enzymatycznej [18, 19, 22].

W przebiegu oceny zróżnicowanych przypadków intoksykacji praktycznie nie udaje się wykorzystać obowiązujących parametrów farmakokinetycznych wyznaczanych w układzie monoterapii, a ich interpretacja przyczynowo-skutkowa sprowadza się rutynowo do oceny statycznych wartości stężenia związków aktywnych we krwi w odniesieniu do obserwowanych objawów klinicznych [4, 5, 8, 9, 11, 14, 15, 24, 26].

Badania dotyczą opracowania efektywnych metod izolacji i analizy CBZ, obok jej głównych metabolitów 10,11-epoksydu karbamazepiny (CBZ-E) i 10,11-dihydroksykarmamazepiny (CBZ-DH) we krwi z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Analiza porównawcza dotyczy wyników stężeń badanych związków oznaczonych we krwi osób zatrutych metodą selektywnej chromatografii cieczowej i stosowanej najczęściej alternatywnej metody immunochemicznej (FPIA, TDx) obciążonej efektem zależności reaktywności krzyżowej („cross reactivity”) [21, 25].

MATERIAŁ I METODY

W badaniach użyto chromatografii cieczowej HPLC Perkin Elmer 1022 LC Plus, wyposażony w detektor Perkin Elmer 785 A UV/VIS ($\lambda = 222$ nm) oraz kolumnę rozdzielczą LiChroCart 250-4 LiChrospher 60 RP select B (5 μ m). Optymalny rozdział uzyskano przy użyciu dwustopniowej pompy w warunkach przepływu izokratycznego (1.1 ml/min) o składzie fazy ruchomej 40 % Acetonitrylu, 60 % buforu fosforanowego o pH 2.3.

Zasada oznaczania metodą HPLC – krzywa kalibracyjna.

W przypadku analizy ilościowej sprawdzono zakres kalibracji zależności $Ab = f(c)$, która dotyczyła przedziału stężeń 2.5-20 μ g/cm³ badanych substancji (CBZ i CBZ-E) i 0.5-5 μ g/cm³ w przypadku CBZ-DH. Powyższe zależności kalibracyjne uzyskano w warunkach precyzyjnego automatycznego wprowadzenia stałej objętości 20 μ l/cm³ bez konieczności używania wzorca wewnętrznego. Warunki izolacji badanych związków dotyczyły surowicy krwi ludzkiej, którą obciążono stałą ilością badanego związku (0.1 mg/cm³). Po okresie inkubacji obciążonego osocza (± 24 godz. w temp. 20°C), próbkę poddano izolacji z użyciem stałej fazy ekstrakcyjnej Abselut Nexus firmy Varian (SPE).

Warunki ekstrakcji SPE z użyciem fazy stałej Abselut Nexus LRC-60 mg.

Na kolumnę wypełnioną fazą stałą wprowadzono 1 cm³ surowicy krwi ludzkiej zawierającej 0.1 mg badanej substancji i przesączono ją w czasie 1 minuty. Następnie kolumnę przemyto wodą zdemineralizowaną (1 cm³) i osuszono w próżni. Desorbcję badanych związków przeprowadzono przy użyciu metanolu (1 cm³). Otrzymany ekstrakt odparowano do sucha i pozostałość przed badaniem chromatograficznym ponownie rozpuszczono w 100 μ l alkoholu metylowego.

Wykonanie oznaczenia w materiale biologicznym.

Materiałem do badań były próbki surowicy krwi osób zatrutych karbamazepiną o zróżnicowanym stanie klinicznym oraz próbki krwi sekcyjnej, zabezpieczonej do badań toksykologicznych, z racji jej przedawkowania. Próbki krwi bezpośrednio po pobraniu zostały odwirowane a uzyskane osocze w ilości 1 cm³ zostało wykorzystane do izolacji na kolumnkach Abselut-Nexus, zgodnie z powyższym przepisem. W przypadku krwi sekcyjnej (zhemolizowanej) do izolacji użyto 1 cm³.

Pomiary stężeń CBZ i jej metabolitów w surowicy krwi metodą fluorescencyjno-polaryzacyjno-immunologiczną (FPIA).

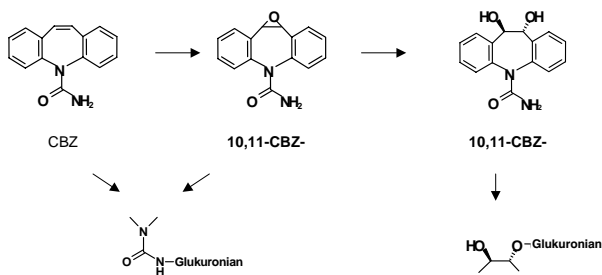
Do badań użyto oryginalnych odczynników firmy ABBOTT stosowanych rutynowo w analizie leków w surowicy krwi pod nazwą TDx-Analizer. Zastosowana metoda zapewnia szybkie i dokładne pomiary zespołu związków (karbamazepina-metabolity) w układzie zależności interpretacyjnych (cross-reactivity). Dla oznaczenia CBZ czułość wynosi 0.5 μ g/ml, a błąd metody wyrażony procentowym odchyleniem standardowym oscyluje w zakresie poniżej 5 %.

Wyniki i dyskusja.

Efekt działania toksycznego CBZ jest determinowany dodatkowo poziomem aktywnego metabolitu 10,11-epoksydu karbamazepiny (CBZ-E) oraz

w mniejszym stopniu jego produktu hydrolizy 10, 11-dihydroksykarbamazepiny (CBZ-DH), którego zakres stężeń w badanych próbkach oscylował w przedziale dolnej granicy kalibracji $\pm 0.5-3.5 \mu\text{g/ml}$. Proces biotransformacji CBZ [17, 24] uwzględniający strukturę chemiczną głównych metabolitów przedstawia ryc. 1.

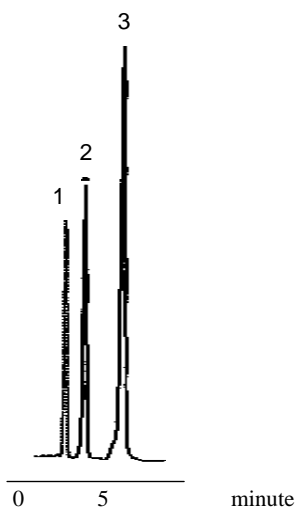
Ryc. 1. Schemat metabolizmu karbamazepiny (CBZ).
Fig. 1. Metabolic pathway of carbamazepine (CBZ).



W proponowanych warunkach wysoko sprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) uzyskano rozdział zespołu badanych związków, przydatnych zarówno w analizie jakościowej, jak i ilościowej materiału biologicznego (ryc. 2)

Ryc. 2. Rozdział chromatograficzny (HPLC) karbamazepiny (CBZ) i jej metabolitów.
Fig. 2. Chromatographic separation (HPLC) of carbamazepine and its metabolites.

Fig. 2. Chromatographic separation (HPLC) of carbamazepine and its metabolites 1-10,11-CBZ-OH; 2-10, 11-CBZ-E; 3-CBZ.



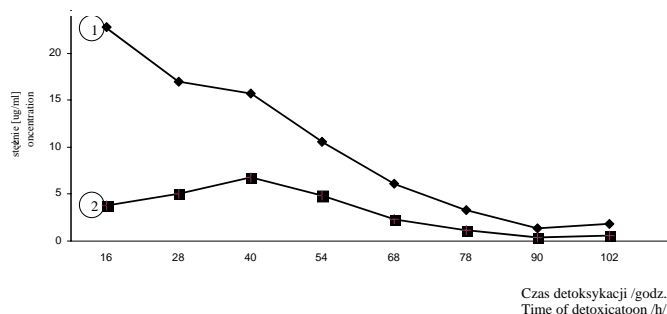
Statystyczna analiza powtarzalności oznaczeń CBZ i jego głównego metabolitu CBZ-E przy zastosowaniu proponowanej metody dla ustalonego zakresu kalibracji o wysokim współczynniku korelacji $R=0.998$ wykazała akceptowane wartości procen-

towego względnego odchylenia standardowego w przedziałach: $Sr=2.03$ (CBZ) i $Sr=3.05$ (CBZ-E). Sprawdzone warunki izolacji badanych związków z użyciem stałej fazy Absolut LRC-60 Nexus o uproszczonej technice izolacji z pominięciem etapu aktywacji fazy, zapewniają wysoki powtarzalny odzysk w zakresie 95 % (CBA i CBZ-E) i 90 % (CBZ-DH) (dla $n=10$). Wysoki parametr odzysku badanych związków podczas ich izolacji oraz równoczesna możliwość ich oznaczenia we krwi osób zatrutych, pozwolił na przeprowadzenie obiektywnej oceny toksykologicznej, w aspekcie konfrontacji obydwóch metod – homogenicznej (TDx) i potwierdzającej, heterogenicznej (HPLC).

Typowy przebieg zmian poziomów stężeń CBZ i jej głównego metabolitu CBZ-E w warunkach zatrucia klinicznego, badany metodą HPLC, obserwowany po czasie dwóch godzin od przedawkowania przedstawiono na ryc. 3.

Ryc. 3. Typowe zmiany stężenia karbamazepiny (CBZ) i epoksydu karbamazepiny (CBZ-E) obserwowane w przebiegu procesu detoksykacji.
Fig. 3. Typical changes of CBZ and CBZ-E concentration observed in the course of Detoxication.

Fig. 3. Typical changes of CBZ and CBZ-E concentration observed in the course of Detoxication. 1-CBZ; 2-CBZ-E.



Uzyskane zależności wskazują na znaczący udział aktywnego metabolitu (CBZ-E), który średnio dla 10-ciu badanych przypadków intoksykacji klinicznej osiąga w osoczu stężenie wynoszące 5-33 % stężenia CBZ. Powyższe wyniki zależności stężeń CBZ i CBZE znajdują potwierdzenie w badaniach innych autorów [4, 5, 7, 11, 13, 14, 18], którzy próbowali je wykorzystać dla celów obiektywnej interpretacji przebiegu zatruc klinicznych. Przyjmuje się, że dawka niebezpieczna, stwarzająca duże ryzyko zgonu, jest związana z zażyciem powyżej 12.0 g CBZ, natomiast dawki poniżej 10 g nie stwarzają takiego zagrożenia [27]. Zakres stężeń śmiertelnych w osoczu krwi jest zróżnicowany i wynosił średnio $37 \mu\text{g/ml}$, a u pacjentów wyleczonych $35 \mu\text{g/ml}$ [27]. Podobne zakresy stężeń śmiertelnych CBZ $35-70 \mu\text{g/ml}$ znajdują potwierdzenie

w badaniach innych autorów, które uwzględniono w monografii [1]. Niższe zakresy stężeń śmiertelnych CBZ wynikają zarówno z udziału aktywnych metabolitów [5, 15, 29], jak również z następstw zbyt późno wdrożonych zabiegów detoksykacyjnych [23, 31]. W ocenie zagrożeń klinicznych należy przyjąć za niebezpieczny poziom CBZ zakres 20-40 µg/ml, na który wskazują badania wielu autorów [1, 9, 12, 23, 28].

Stopień zatrucia klinicznego karbamazepiną jest determinowany zakresem stężeń w surowicy krwi, który jest zróżnicowany dla dorosłych czy dzieci i wzbudza szereg kontrowersji interpretacyjnych w relacji jego ciężkości przebiegu. Zgodnie z obserwacjami Hojera i współ. [12] przekroczenie stężenia 40 µg/ml jest następstwem poważnych i groźnych objawów zatrucia CBZ, tj. występowaniem śpiączki, drgawek, zaburzeń oddychania i przewod-

nictwa sercowego. Wśród innych kwalifikacji obrazu klinicznego zatrucia CBZ w odniesieniu do jej stężenia w surowicy krwi wskazuje się na cztery najczęściej notowane fazy [31]: powyżej 25 µg/ml (duże ryzyko drgawek i śpiączki toksycznej), 15-25 µg/ml (pobudzenie psychoruchowe, hipermetryczne, objawy halucynacji), 11-15 µg/ml (senność, ataksja), poniżej 11 µg/ml (stan prawidłowy, rzadko łagodna ataksja). Równocześnie należy podkreślić, że ryzyko zgonu na skutek przedawkowania CBZ u dzieci do 12 roku życia jest większe przy poziomach w surowicy niższych aniżeli u dorosłych [11, 16, 18].

Uzyskane wyniki badań własnych (tabela I) dwoma niezależnymi metodami analitycznymi (HPLC) i immunofluorescencyjną w świetle spolaryzowanym (FPIA TDx) wskazuje na zróżnicowane zakresy stężeń CBZ i jej głównego metabolitu (CBZ-E) dla badanych przypadków zatruc.

Tab. I. Wyniki analizy karbamazepiny (CBZ) i jej metabolitów; 10,11-epoksydu karbamazepiny (CBZ-E) i 10,11-dihydroksykarmamazepiny (CBZ-DH) w materiale biologicznym (krew) i ich zakresy stężeń.

Tab. I. Analytical results of carbamazepine (CBZ) and its metabolites 10,11-epoxide carbamazepine (CBZ-E), 10, 11-dihydroxycarbamazepine (CBZ-DH) in biological material (blood) and their concentration ranges.

Badany przypadek zatrucia klinicznego Examined case of clinical poisoning	Czas badania od zatrucia (godziny) Sample withdrawal time (h)	Poziomy badanych związków w osoczu (zatrucia kliniczne) lub krwi sekcyjnej – (zgony) µg/ml Levels of examined compounds in serum (clinical poisoning) or autopsy blood (fatal cases) µg/ml			
		FPIA-TDx	HPLC		
		CBZ	CBZ	CBZ-E	CBZ-OH
WM L = ♀ I. 19	2	25.1	15.67	3.50	0.75
RP L = ♂ I. 37	12	31.0	18.98	2.19	1.37
DM L = ♀ I. 18	14	15.0	11.84	4.03	1.75
WM L = ♂ I. 23	16	21.0	17.98	3.36	1.67
WR L = ♂ I. 27	15	37.2	23.07	6.12	2.47
CR L = ♂ I. 30	20	42.5	21.64	12.41	1.31
NB L = ♂ I. 54	18	40.0	22.77	3.76	1.55
KE L = ♂ I. 49	23	26.3*	4.36	1.84	1.50
GA L = ♂ I. 20	4	25	8.71	0.72	-
PK L = ♀ I. 43	12	24	14.33	2.04	0.94
Badany przypadek zgonu Examined fatal case	Obecność innych związków Presence of other compounds				
DZ ♂ I. 57 SB ♂ I. 49	Etanol 0.28 %	25.4	17.0	4.51	2.52
	Estazolam 0.3 µg/ml	15.2	9.8	3.19	1.35
PM ♂ I. 51	Etanol 1.57 %	18.2	7.2	3.25	0.93
SM ^{xx} I. 16	Diazepam	20.6	-	-	-
KP ^{xx} I. 43	Estazolam 0.05 µg/ml	290.75	-	-	-

Poziomy CBZ ustalone metodą TDx, są obciążone efektem wpływów interferencyjnych metabolitów (cross-reactivity) i są zdecydowanie wyższe od wyników badań uzyskanych metodą HPLC. Obserwowane różnice stanowią w przybliżeniu addytywność wartości stężeniowych CBZ i jej metabolitów (CBZ-E, CBZ-DH). Brak precyzyjnych danych o właściwościach toksycznych CBZ-E i CBZ-DH nie pozwala w pełni na obiektywną ocenę ich udziału w przebiegu intoksykacji CBZ. Badania kliniczne przebiegu licznych przypadków intoksykacji wskazują, że nie można jednoznacznie określić korelacji między początkowym stężeniem CBZ w surowicy krwi a końcowym efektem prowadzonej detoksykacji. Szerokie badania kliniczne wskazują, że stężenie CBZ w surowicy krwi powyżej 30 µg/ml implikuje wyraźnie groźne objawy zatrucia, wśród których występują drgawki, zaburzenia oddychania wymagające jego wspomaganie oraz dysfunkcję układu krążeniowego, zagrażającą życiu.

W interpretacji objawów klinicznych wynikających z przedawkowania CBZ dominują wykładniki oddziaływania kardiotoxycznego z towarzyszącą hipotensją i bradykardią [19].

Ocena zakresów stężeń CBZ, które notowano w przypadkach niektórych zgonów (tab. I) oraz analogicznych danych piśmiennictwa [5, 15], wskazuje często na niższe wartości aniżeli te, które występowały podczas skutecznie leczonych przypadków zatruc klinicznych. Brak szczegółowych danych odnośnie czasu przebiegu intoksykacji do wystąpienia zgonu wskazuje na dodatkowy udział innych czynników zakłócających przebieg farmakokinetycznych procesów eliminacji CBZ.

Wśród czynników modyfikujących proces przemian metabolicznych CBZ wymienić należy autoindukcję enzymatyczną, występującą u pacjentów leczonych przewlekłe, stan czynnościowy narządów, a szczególnie wątroby, egzogenne czynniki wynikające z interakcji innych leków, będącymi inhibitorami enzymatycznymi. Szczególne znaczenie w interpretacji zatruc CBZ należy przypisać interakcji z udziałem innych leków. Dostępne piśmiennictwo [18, 19] wskazuje na znaczące efekty inhibicji procesów metabolizacji CBZ w surowicy krwi oraz interakcji wiązań z białkami. Odwrotny efekt obniżenia stężenia CBZ w surowicy krwi jest obserwowany w układzie interakcji z lekami będącymi induktorami enzymatycznymi, m.in. podczas politerapii z udziałem innych leków [19, 22].

Równocześnie należy podkreślić, że CBZ, będąc sama induktorem enzymatycznym przyspiesza metabolizm innych leków, m.in. kwasu walproinowego, fenytoiny, benzodiazepin [19].

Konsekwencje wynikające z toksykokinetycznych zagrożeń obserwowanych po przedawkowaniu CBZ nakazują więc natychmiastowe wdrożenie działań detoksykacyjnych, którym należy przypisać znaczącą rolę w skutecznym postępowaniu terapeutycznym osób zatrutych [23]. Praktyka kliniczna dowodzi, że każda zwłoka czy odstępianie od wdrożenia postępowania detoksykacyjnego w przypadku zatruc, stwarza ryzyko niepowodzenia terapeutycznego a notowane zgony charakteryzują się niskim zakresem stężeń CBZ poniżej 20 µg/ml. Za szczególnie niebezpieczne należy uznać przypadki intoksykacji osób przewlekłe zażywających leki przeciwpadaczkowe. Kompleksowa ocena opiniodawcza zamieszczonego w tabeli I przypadku śmierci nagłej 16 letniego mężczyzny (SM), zażywającego leki od 5 roku życia (fenytoina, kwas walproinowy, luminal), wykazała uszkodzenie nerek oraz wątroby o charakterze przewlekłym. Nagły wzrost stężenia CBZ we krwi do wartości 20.6 µg/ml był następstwem zaburzeń czynnościowych wątroby, wynikających z hamowania aktywności hepatocytów w procesie jej metabolizacji.

Wśród wykładników ostrej dysfunkcji wątroby w badaniach histologicznych tego przypadku ujawniono: rozproszoną martwicę komórek strefy pośredniej i centralnej, rozproszone stłuszczenie oraz nacieki limfocytarne, granulocytarne i obojętnośćonne w przestrzeniach bramnych. Konsekwencją powyższych zmian i dysfunkcji był zastój żółci obok masywnego przekrwienia wątroby.

W toksykologicznej ocenie przebiegu podobnych przypadków zatruc klinicznych czy śmiertelnych z udziałem CBZ i jej aktywnych metabolitów, należy niezależnie od wyników badań chemicznych uwzględnić udział innych czynników interferujących, wynikających ze stanu zdrowia czy objawów chorobowych pacjenta przed zdarzeniem oraz tanatologicznych badań pośmiertnych, a szczególnie histopatologicznego.

WNIOSKI:

- Zatrucia karbamazepiną (Amizepin, Tegretol) stanowią ważny problem toksykologii klinicznej i sądowej, który wymaga odpowiednich metod diagnostycznych przydatnych w obiektywnej interpretacji klinicznej czy tanatologicznej.
- Zaproponowane warunki izolacji (met. SPE-Absolut Nexus-RC-60) i analizy (met. HPLC) CBZ i jej metabolitów CBZ-E i CBZ-DH mogą być przydatne w diagnostyce chemicznej zatruc klinicznych, sądowych oraz w monitorowanej terapii.

- Obiektywna ocena przebiegu ciężkości zatrucia klinicznego czy ustalenia mechanizmu śmierci nagłej z udziałem CBZ wymaga kompleksowych badań z zakresu diagnostyki chemicznej, konfrontacji stanu zdrowia i objawów chorobowych pacjenta w chwili zdarzenia oraz tanatologicznych badań pośmiertnych.

PIŚMIENNICTWO

1. Baselt R. C.: Disposition of toxic drugs and chemicals in man Biomedical Publication, Foster City California, 2002, 156-159.
2. Bertram M., Fabien C. W., Schwarz S., Achwab S.: Massive carbamazepine overdose: clinical and neurophysiological finding. *J. Neurol.*, 1998, 245, 745-747.
3. Bonato P. S., Lanchote V. L., Carvalho D., Ache P.: Meas – rement of carbamazepine and its main biotransformation products in plasma by HPLC, *J. Anal. Tox.*, 1992, 16, 88-92.
4. Dalpe-Scott M., Degouffe M., Garbutt D., Drost M.: A comparison of drug concentrations in post-mortem cardiac and peripheral blood in 320 cases. *Can. Soc. Forensic Sci. J.*, 1995, 28, 113-121.
5. Druid H., Holmgren P. A.: A complication of fatal and control concentration of drugs in postmortem femoral blood. *J. For. Sci.*, 1997, 79-87.
6. Duzova A., Baskin E., Usta Y., Ozen S.: Carbamazepine poisoning: treatment with plasma exchange. *Hum Exp. Toxicol.*, 2001, 20, 175-177.
7. Eadie M. J.: Formation of active metabolites of anticonvulsant and therapeutic significance. *Clin. Pharmacokinet.*, 1991, 21, 27-41.
8. Eichelbaum M., Bertilsson L., Lund L.: Plasma levels of carbamazepine and carbamazepine-10,11 epoxide, during treatment of epilepsy. *Eur. J. Clin. Pharm.*, 1976, 9, 417-421.
9. Feldman P. R., Burda M., Glińska-Serwin M., Kotlarska M., Szajewska J.: Korelacja poziomu karbamazepiny we krwi ze stanem klinicznym zatrute-go, ocenianym za pomocą systemu APACHE II, TOXSCORE oraz stopnia śpiączki w skali Matthew. *Przegl. Lek.*, 1997, 54, 410-415.
10. Fisher R. S., Cysyk B.: A fatal overdose of carbamazepine: case report and review of literature. *Clin. Tox.*, 1988, 26, 477-486.
11. Furlanut M., Montanari G., Bonin P., Gasaral L.: Carbamazepine and carbamazepine-10,11 epoxide serum concentrations in epileptic children. *J. Pediatr.*, 1985, 106, 491-495.
12. Hojer J., Malmund H. O., Berg A.: Clinical features in 28 consecutive cases of laboratory confirmed massive poisoning with carbamazepine alone. *Clin. Toxicol.*, 1993, 31, 449-458.
13. Hund B. F. D., Aucamp A. K., Muller F. O., Potgieter M. A.: Carbamazepine and its major metabolites in plasma: A summary of eight years of therapeutic drug monitoring. *Ther. Drug Monit.*, 1983, 5, 427-435.
14. Hundt H. K. L., Aucamp A. K., Muller F. O.: Pharmacokinetic aspects of carbamazepine and its two major metabolites in plasma during overdose. *Hum. Tox.*, 1983, 2, 607-614.
15. Kłys M., Bystrowska B., Bujak-Giżycka B.: Postmortem toxicology of carbamazepine. *J. Anal. Tox.*, 2003, 27, 243-248.
16. Lehrman S. N., Bauman M. L.: Carbamazepine overdose. *Am. J. Dis. Child*, 1981, 135, 768-769.
17. Leratanangkoon K., Horning M. G.: Metabolism of carbamazepine. *Drug Met. Disp.*, 1982, 10, 1-10.
18. Liu H., Delgado M. R.: Improved therapeutic monitoring of drug interactions in epileptic children using carbamazepine polytherapy, *Ther. Drug Monit.*, 1984, 16, 132-138.
19. Mac Kichan J. J.: Carbamazepine: A tekstbook for the chemical application of therapeutic drug monitoring. *Abbot Laboratories*, 1986, 211-224.
20. May D. C.: Acute carbamazepine intoxication: clinical spectrum and management. *South Med. J.*, 1984, 77, 24-26.
21. Mihaly G. W., Phillips J. A., Louis W. J., Vajda F. J.: Measurement of carbamazepine and its epoxide metabolite by high – performance liquid chromatography, and of assay techniques for the analysis of carbamazepine. *Clin. Chem.*, 1977, 23, 2283-2287.
22. Minikowa G., Getova D.: Influence of carbamazepine-10,11-epoxide on the serum level of valproic acid in epileptic patients on combined treatment with carbamazepine and valproic acid. *Folia Med.*, 2000, 42, 16-19.
23. Montgomery V. L., Richman B. J., Godismith L. J., Rodgers G. C. Jr.: Severity and carbamazepine level at time of initial poison center contact correlate with outcome in carbamazepine poisoning. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, 1995, 33, 311-323.
24. Morselli P. L., Frigerio A.: Metabolism and pharmacokinetics of carbamazepine. *Drug Met. Rev.*, 1975, 4, 97-113.
25. Parant F., Bossu H., Gagnieu M. C., Lardet G., Moulsmas M.: Cross-reactivity assesment of carbamazepine-10,11-epoxide, oxycarbamazepine and 10-hydroxycarbamazepine in two automated carbamazepine immunoassays: Petina and Emit 2000. *Ther. Drug Monit.* 2003, 25, 41-45.

26. Patsalos P. N., Krishna S., Elyas A. A., Lascelles P. T.: Carbamazepine and carbamazepine-10,11 epoxide pharmacokinetics in on overdose patient. *Hum. Toxicol.*, 1987, 6, 241-244.
27. Schmidt S., Smitz-Buhl M.: Signs and symptoms of carbamazepine overdose. *J. Neurol.*, 1995, 242, 169-173.
28. Spiller H. A., Krenzelok E. P., Cookson E.: Carbamazepine overdose: a prospective study of serum levels and toxicity. *Clin. Toxicol*, 1990, 28, 455-458.
29. Spiller H. A. Carlisle R. D.: Timely antemortem and postmortem concentrations in a fatal carbamazepine overdose. *Journal Forensic Sci* 2001, 46. 1510-1512.
30. Sullivan J. B., Rumacki B. H., Peterson R. G.: Acute carbamazepine toxicity resulting from overdose. *Neurology*, 1981, 31, 621-624.
31. Weaver D. F., Camfield P., Fraser A.: Massive carbamazepine overdose: Clinical and pharmacologic observations in five episodes. *Neurologu* 1988, 38, 755-759.
32. Tibballs J.: Acute toxic reaction to carbamazepine: Clinical effects and serum concentrations. *J. Pediatr* 1992, 121, 295-299.

Adres pierwszego autora:
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej AM
ul. Świącickiego 6
60-781 Poznań