

Plasmakonsentrasjonsanalyse av legemidler med immunologiske metoder

LEGEMIDLER I PRAKSIS

ODD BRØRS

Email: odd.brors@ioks.uio.no

SEKSJON FOR KLINISK FARMAKOLOGI OG TOKSIKOLOGI

Divisjon for laboratoriemedisin

Ullevål sykehus

0407 Oslo

Digitoksin og digoksin, teofyllin, antiepileptika, antiarytmika og ciklosporin er legemidler som det klinisk er vanskelig å vurdere effekt og toksisitet av og som derfor hyppig analyseres. Paracetamol, salisylat og etanol er stoffer som hyppig krever rask analyse i intoksikasjonssammenheng. Analysemetoder basert på spesifikke antistoffer eller på spesifikke enzymer er de dominerende analysemetoder i dag. Det finnes ulike typer ferdige analysesett, tilpasset analysemaskiner med stor kapasitet og mulighet for raskt svar. For adekvat resultatbedømmelse kreves riktig prøvetaking og utstyr, opplysninger om prøvetidspunkt i forhold til legemiddelinntak, og kliniske opplysninger om sykdommen, organfunksjon, behandlingseffekt og toksisitet.

Legemiddelanalyser i plasma eller serum anvendes under terapikontroll til doseinnstilling og ved intoksikasjoner til diagnostikk og oppfølging. Ved terapikontroll kan det være indikasjon for bruk av plasmakonsentrasjonsmåling i doseringsveiledning hvis det er dokumentert sammenheng mellom konsentrasjon og effekt(er), liten konsentrasjonsforskjell mellom terapeutisk og toksisk nivå, og det er vanskelig å bedømme klinisk effekt. Behovet øker hvis den kliniske tilstand krever at legemidlet doseres opp mot maksimal effekt. Ved intoksikasjon er legemiddelanalyse aktuelt som diagnostisk hjelpemiddel, og til å forutsi behandlingsbehov. For en rekke hyppig analyserte legemidler finnes analysesett basert på immunologiske eller enzymatiske analysemetoder. De hyppigst brukte immunologiske legemiddelanalyser i plasma skal omtales her.

Immunologiske og enzymbaserte teknikker

Behov for passende sensitivitet, spesifisitet, og arbeidsbesparende metoder har styrt utviklingen av immunologiske legemiddelanalyser. Analysespesifisitet for legemidlet er oftest knyttet til et antistoff mot legemidlet koblet til et bærer-molekyl eller bruk av et enzym med tilstrekkelig spesifisitet for stoffet (f.eks. enzymbasert etanolanalyse). Siden 1970 er en lang rekke beslektede, men noe ulike immunologiske/enzymbaserte teknikker utviklet til kvantitativ analyse av legemidler, blant annet radioimmunanalyse (RIA), enzymmultiplisert immunanalyse (EMIT), fluorescenspolarisasjonsimmunanalyse (FPIA), klonet enzym-donor immunanalyse (CEDIA), mikropartikkel enzym-immunanalyse (MEIA), hemning av utstrålt energi (radiative energy attenuation) (REA) og immunturbidimetri (KIMS) (1). Produsentene (Abbott, Dade-Behring og Roche) leverer analyseoppsett med egne analysemaskiner og reagenser hvor noe forskjellige metodeprinsipper ofte anvendes for ulike legemidler.

Spesifisitet

Antistoffets spesifisitet overfor det uomdannede legemiddel (modersubstansen) i forhold til metabolitter bestemmes av hvilken del av legemidlet antistoffet har affinitet for. Det kan være hensiktsmessig at antistoffet kryssreagerer med metabolitter som er farmakologisk aktive, men ikke med inaktive metabolitter. Flere produsenter har analysesett med reagenser basert på immunologiske metoder, enzymmetoder eller fargereaksjoner og små prøvemengder som er tilpasset automatisert analyse i stormaskiner. Tilstrekkelig sensitivitet og spesifisitet for rutineanalyser i den kliniske hverdag er kombinert med mulighet for kort analysetid og raskt svar, og analysene er derfor egnet også i intoksikasjonssammenheng til øyeblikkelig hjelp-analyser. Siden produsentene lager hver sine antistoffer, kan spesifisiteten variere, og det kan særlig forventes ulikheter mellom metodene når kryssreaksjon med metabolitter er forskjellig mellom metodene (tab 1). Dette kan slå ut på enkeltpasienter med avvikende metabolismemønstre, lever- eller nyresvikt, hvor det relative bidrag fra aktive metabolitter til den farmakologiske effekt kan avvike fra gjennomsnittspasienten. For digitalisglykosider er det en viss kryssreaksjon mellom metodene.

I praksis er de store produsentenes analysetilbud inkludert reagenser og maskiner godt egnet til klinisk rutinebruk når det tas hensyn til de foran nevnte muligheter for ulik spesifisitet og kryssreaksjon med metabolitter. Derimot vil ikke alle metoder nødvendigvis være tilstrekkelig spesifikke til vitenskapelige, farmakokinetiske studier eller til helt sikker identifikasjon av stoff.

Tabell 1

Tabell over legemiddelanalyser i plasma med immunologiske og enzymbaserte metoder

Legemiddel	Metoder	Terapeutisk område	Spesifisitet av metoden	Spesielle forhold	Prøvetidspunkt i forhold til inntak (timer)
Digitoksin 15	FPIA – CEDIA – KIMS	33 (40) nmol/l	Medbestemmer enkelte metabolitter	Nyresvikt kan gi redusert binding	> 6
Digoksin f (MEIA)	MEIA – EMIT – KIMS	1,2 – 2,5 nmol/l	Kryssreaksjon digitoksin; endogent digoksinliknende stof	Nyresvikt gir redusert clearance	> 6
Kinidin	FPIA – EMIT – FP	5 – 12 µ mol/l	Kryssreaksjon enkelte metabolitter	Enzymhemmer	> 6
Disopyramid	EMIT	8 – 15 µ mol/l	–	Konsentrasjonsavhengig binding	> 6
Teofyllin	FPIA – EMIT – FP	55 – 110 µ mol/l	Ikke kjent kryssreaksjon	Hjertesvikt gir redusert clearance	4 – 6
Fenobarbital	FPIA – EMIT – FP	50 – 130 µ mol/l	Kryssreaksjon P-OH-fenobarbital (FPIA)	Enzyminduktor	> 6
Primidon	EMIT – FP	23 – 55 µ mol/l (produsents angivelse)	Ikke kjent kryssreaksjon	Omdannes til fenobarbital	–
Fenytoin	FPIA – EMIT – FP	40 – 80 µ mol/l	Kryssreaksjon metabo- litter (FPIA)	Enzyminduktorvariasjon i binding	> 6
Karbamazepin	FPIA – EMIT – FP	15 – 45 µ mol/l	Kryssreaksjon karbamazepin-10,11-epoksid og desipramin	Enzyminduktorvariasjon i binding	> 6
Valproat	FPIA – EMIT – FP	300 – 600 (700) µ mol/l	Kryssreaksjon 3-keto-valproat (FPIA)	Enzymhemmer, konsentrasjonsavhengig binding	> 6
Etosuksimid	FPIA – EMIT	300 – 600 µ mol/l	–	–	> 6
Ciklosporin	FPIA – EMIT	75 – 240 µ g/l (avhengig av klinisk situasjon)	Medbestemmer enkelte metabolitter (FPIA)	–	Like før neste dose
Metotreksat	FPIA	–	–	–	–
Paracetamol	FPIA – EMIT enzymatisk	–	Ikke kjent kryssreaksjon	–	–
Salisylat	FPIA – Fe(III)-nitrat (ren fargereaksjon)-enzymatisk	–	Kryssreaksjon diflunisal, aminosalisylat, gentisin- syre (FPIA, enzymatisk)	–	–
Etanol	REA – EMIT enzymatisk	–	Kryssreaksjon med 1-propanol og 2-propanol (enzymatisk metode)	–	–
Forkortninger med engelsk forklaring og norsk oversettelse					
CEDIA	Cloned enzyme donor immunoassay	Klonet enzym-donor immunanalyse			
EMIT	Enzyme multiplied immunoassay technique	Enzymmultiplisert immunanalyse			

FP	Fluorescence polarization	Fluorescenspolarisasjon
FPIA	Fluorescence polarization immunoassay	Fluorescenspolarisasjonsimmunanalyse
KIMS	Kinetics interaction of microparticles in a solution	Immunturbidimetri
MEIA	Microparticulate enzyme immunoassay technique	Mikropartikkel enzym-immunanalyse
REA	Radiative energy attenuation technology	Hemning av utstrålt energi

Prøvetakingstidspunkt i forhold til legemiddelinntak

Ved terapikontroll er prøvetidspunkt avhengig av hvilken del av doseintervallet som er brukt ved etablering av det terapeutiske området. Generelt bør prøvetaking skje minst seks timer etter inntak av legemidlet for å unngå absorpsjonstoppen. For ciklosporin tas prøven like før neste dose (bunnkonsentrasjon) på grunn av en svært uttalt og variabel absorpsjonstopp. Absorpsjonstoppen for ciklosporin stiger til verdier mange ganger bunnkonsentrasjonen, som terapiområdet er utarbeidet for. For teofyllin tilstreber man prøvetakingstidspunkt tilsvarende forventet toppkonsentrasjon fordi kontroll med toksisitet er det sentrale formålet med analysen. Teofyllinabsorpsjonstoppen kommer etter 4 – 6 timer ved bruk av retardtablettene, som er mest brukt, og etter 1 – 2 timer ved bruk av raskt oppløselige tabletter. Ved intoksikasjon (salisylat, paracetamol) må den første analysen ofte gjentas for å undersøke om det er stigende verdier på grunn av pågående absorpsjon.

Prøvetakingstidspunkt i forhold til likevekt

Det går fem halveringstider eller mer før likevekt mellom inntak og eliminasjon (steady-state) nås, både etter behandlingsstart og etter dosejustering. Lengre halveringstid innebærer derfor lengre tid til likevekt. Individuelle forskjeller i eliminasjonsevne (clearance) av legemidler er årsak til at standard dosering under legemiddelterapi resulterer i ulike likevektsnivåer i plasma hos ulike individer. Både alder, kjønn, arveanlegg, organfunksjon og miljøfaktorer kan influere på clearance.

Prøvetakingsutstyr

Både plasma og serum kan brukes til legemiddelanalyser. Et unntak er ciklosporin som analyseres i fullblod. Plastglass og gelglass bør ikke anvendes ved prøvetaking til legemiddelanalyser fordi konsentrasjonen i plasma eller serum kan forandres av effekt på binding til blodceller eller til røret/gelen. Heparin som antikoagulant er generelt brukbart, mens EDTA og citrat kan interferere med enkelte analyser. Anvisninger fra laboratoriet og produsenten bør følges.

Vurdering av prøvesvar i forhold til den kliniske problemstilling

Tabell 2

Nyttige opplysninger ved resultatvurdering

Område Opplysning
Sykdommen Diagnose (behand- lingsindikasjon)
Legemidlet Preparat Formulering Dosering Tid etter oppstart av behandling Tid etter siste dose Annen legemiddel- behandling
Kliniske effekter Terapeutisk effekt Mistenkte bivirk- ninger Toksisitet
Organfunksjoner Leverfunksjon Nyrefunksjon Hjertefunksjon
Problemstilling for prøvetaking Terapisvikt Toksisitet Rutineundersøkelse

Adekvat bedømmelse av prøvesvaret kan kreve en rekke opplysninger (tab 2). Terapeutiske områder er dokumentert for en rekke legemidler (tab 1). Disse områdene er veiledende og ikke absolutte. Hos enkeltpasienter vil mange forhold innvirke på hvilken konsentrasjon som bør tilstrebes: hvor tungtveiende er indikasjonen, hvor stor terapeutisk effekt og hvor mye bivirkninger sees på ulike konsentrasjonsnivåer? Plasmakonsentrasjonsmålinger må derfor sees på som et verdifullt hjelpemiddel til riktig dosering, men kan ikke erstatte klinisk skjønn. Forhold som påvirker binding av legemidlet til plasmaproteiner forandrer relasjonen mellom totalkonsentrasjon og effekt. De vanlig oppgitte terapeutiske områder for legemidler gjelder totalkonsentrasjon i plasma (serum). Effekten er imidlertid bedre korrelert til fri konsentrasjon av legemiddel i plasma. Sammenholdelse av målte verdier hos pasienter med terapeutisk område forutsetter at bindingen til plasmaproteiner ikke er forandret. Redusert plasmaproteinbinding av *antiepileptika* og derved økt andel fritt legemiddel har betydning for tolking av plasmakonsentrasjonsverdiene. Klassisk er økt fri fraksjon av *fenytoin* ved nyresvikt, hvor fritt fenytoin kan utgjøre omkring 20 % av den totale konsentrasjon, sammenliknet med gjennomsnittlig 10 % ved normal nyrefunksjon. Hyperbilirubinemi øker også andelen av fritt fenytoin tilsvarende på grunn av redusert binding til plasmaproteiner. Slike økninger i andel fritt legemiddel må kalkuleres inn som en risiko for overbehandling ved vurdering av total plasmakonsentrasjon, og opplysninger om andre laboratoriuundersøkelser og kliniske forhold vurderes.

Metning av bindingssteder for *valproat* på albumin gir mer enn proporsjonal økning i fri konsentrasjon av valproat ved økning i totalkonsentrasjon. Man bør derfor være spesielt oppmerksom på at terapeutisk effekt og bivirkninger kan øke raskt over øvre grense for terapiområdet (600 µmol/l). Ved kombinasjonsbehandling med valproat og fenytoin kan valproat forårsake redusert binding av fenytoin, og vice versa. Binding av karbamazepin i plasma varierer også betydelig. Statens senter for epilepsi, Sandvika og Klinisk farmakologisk avdeling, Regionsykehuset i Tromsø, har analysemetoder for å måle binding av legemiddel i plasma, og Abbott har hatt analysereagenser for måling av fri konsentrasjon av fenytoin, karbamazepin og valproat ved hjelp av fluorescenspolarisasjon. Hittil har disse metodene vært lite brukt i vårt land. Binding av *digitoksin* i plasma kan være redusert ved nyresvikt. Vanligvis er 2 – 3 % digitoksin fritt i plasma, dette kan øke 2 – 3 ganger hos enkelte pasienter med nyresvikt. Kliniske tegn til digitalisintoksikasjon må det derfor søkes nøye etter hos disse pasientene, og man bør være tilbakeholden med konsentrasjoner i øvre del av terapiområdet ved nyresvikt. Digoksin er bare 20 – 30 % bundet i plasma, og forandring i binding vil derfor ikke ha betydning for digoksin. Forveksling hos rekvirent med hensyn til om pasienten bruker digoksin eller digitoksin er en meget hyppig forekommende problemstilling i laboratoriet. En lav digoksinverdi skyldes ikke sjelden kryssreaksjon med digitoksin i terapeutisk område hos pasient hvor digoksinanalyse er rekvirert på grunn av en misforståelse.

Oppsummering

Arbeidsmessig enkle analysesystemer basert på antistoff- eller enzymbasert spesifisitet for legemidler og andre stoffer, som etanol, er innarbeidet for de mest vanlig brukte legemidler hvor det er dokumentert behov for plasmakonsentrasjonsmåling som ledd i terapistyring eller intoksikasjonsdiagnostikk. Metodene er spesifikke nok til rutineanalyser i klinisk bruk, og enkelte metoder kan medbestemme metabolitter på grunn av strukturellighet med utgangsstoffet. Kryssreaksjon med andre legemidler kan forekomme i enkelte tilfeller. Ved bruk av metodene må derfor laboratoriets og produsentens angivelser følges. Ved tolkingen av analyseresultatet må det også tas i betraktning at det er totalkonsentrasjon av legemiddel som måles, og man må derfor ta hensyn til muligheter for variasjon i plasmaproteinbinding.

Spalten er redigert av Olav Spigset i samarbeid med Avdeling for legemidler ved Regionsykehuset i Trondheim og de øvrige klinisk farmakologiske miljøene i Norge

LITTERATUR

1. Kricka LJ. Principles of immunological techniques. I: Burtis CA, Ashwood ER, red. Tietz fundamentals of clinical chemistry. Philadelphia: Saunders, 1996: 134 – 47.

Publisert: 30. august 2000. Tidsskr Nor Legeforen.

© Tidsskrift for Den norske legeforening 2026. Lastet ned fra tidsskriftet.no 23. mars 2026.