

LCMSMS-7

S-OH-Karbazepin (NPU10615)

S-Eslikarbazepin (NPU29859)

S-Topiramat (NPU09119)

S-Klobazam (NPU57457)

S-N-desmetylklobazam (NPU53066)

Vid frågor om tolkning av läkemedelskoncentrationer finns klinisk farmakologisk konsultläkare tillgänglig på tel. 046-17 46 20 (helgfri vardag kl. 08.15–16.00).

Bakgrund/Svar/Tolkning/Bedömning

Oxkarbazepin (Trileptal®) [1, 4, 5] används vid behandling av epilepsi [1-4]. Oxkarbazepin metaboliseras vanligen snabbt till metaboliten likarbazepin och det är denna som mäts [2, 3]. Metaboliten är monohydroxiderivatet av oxkarbazepin och benämns därför också OH-karbazepin eller 10-monohydroxiderivat (MHD) [1-3]. Likarbazepin är ett racemat bestående av R- och S-enantiomerer. S-enantiomeren finns som ett eget läkemedel och kallas då eslikarbazepin (Zebinix®).

Topiramat (Topimax®) används vid behandling av epilepsi och för andra indikationer. Topiramat saknar kliniskt relevanta aktiva metaboliter [1, 2]. En mindre del ($\approx 20\%$) av topiramat metaboliseras till ett antal inaktiva metaboliter. Vid oral administration och samtidig terapi med karbamazepin eller fenytoin ökar clearance på grund av inducering med 50 % och halveringstiden minskar med faktor 2 [1-3]. Topiramat binder till erythrocyter men bindningen är troligen mättad vid 9-30 $\mu\text{mol/L}$.

Klobazam (Frisium®) är en benzodiazepin som används som tilläggsmedicinering vid svårbehandlad epilepsi, d.v.s. i kombination med andra läkemedel. Klobazam metaboliseras till en aktiv metabolit, N-desmetylklobazam, genom cytokromenzymet CYP2C19. Både klobazam och N-desmetylklobazam bidrar till behandlingseffekten. Mätning av metaboliten har visat sig nyttigt då det finns genetiska mutationer på CYP2C19, och dessutom kan andra läkemedel påverka enzymaktiviteten (läkemedelsinteraktion) [1].

Indikationer för analys inkluderar dosoptimering vid nyinsättande, otillräcklig klinisk effekt och biverkningar/toxicitet. Referensintervallet för S-OH-karbazepin är 12-140 µmol/L [1], S-eslikarbazepin 12-100 µmol/L, S-Topiramet 6,0-30 µmol/L [1], S-klobazam 0,1-1,0 µmol/L [1] och S-N-desmetylklobazam 1,0-10 µmol/L [1].

Vid serumkoncentrationer under referensintervallet är det lägre sannolikhet för terapeutisk effekt och vid serumkoncentrationer över referensintervallet är det högre risk för biverkningar/toxicitet. Det finns emellertid stor interindividuell variabilitet i optimalt terapeutiskt intervall. Ett individuellt optimalt terapeutiskt intervall kan fastställas genom att bestämma två eller fler serumkoncentrationer, vid uppnådd jämviktskoncentration (steady state) samt stabil anfallskontroll utan besvärande biverkningar.

Metodik/mätprincip

Metoden mäter topiramet med en deutererad homolog (topiramet-d12) som intern standard medan hydroxykarbazepin (OH-karbazepin), eslikarbazepin, klobazam och N-desmetylklobazam har ¹³C-märkta analoger som intern standarder (OH-karbazepin-¹³C₆, klobazam-¹³C₆ respektive N-desmetylklobazam-¹³C₆).

Serum blandas med acetonitril som innehåller intern standard, mixas och centrifugeras. Efter spädning av supernatanten analyseras denna med vätskekromatografi/masspektrometri

(LC-MS/MS), en teknologi som kännetecknas av god känslighet och mycket hög selektivitet.

LC-MS/MS instrumentet är av typen trippel kvadrupol masspektrometer kopplat till en HPLC. Separation av olika provmolekyler sker på en HPLC-kolonn. Provmolekyler som bildar positiva joner i sur miljö joniseras i jonkällan.

Joniseringen sker enligt principen API ES (atmospheric pressure ionisation electrospray). I första kvadrupolen selekteras molekylljonen för aktuell komponent. I andra kvadrupolen fragmenteras molekylljonen med en för denna jon specifik energi. I tredje kvadrupolen selekteras ett av molekylljonens fragment, vanligtvis det med störst intensitet. Den resulterande jonintensiteten mäts med en elektronmultiplikator.

Interferenser och felkällor

Påverkan av hemolys, hyperlipidemi, hyperbilirubinemi och uremi är inte testad men vi antar att någon sådan inte finns på grund av den höga specificiteten i LC-MS/MS teknologin.

Mätområde

Analys	Kvantifieringsgräns (µmol/L)	Mätintervall (µmol/L)
OH-Karbazepin	1,0	1,0 - 256
Topiramet	1,0	1,0 - 256
Klobazam	0,063	0,063 – 16,0
N-desmetylklobazam	0,25	0,25 – 64,0

Mätosäkerhet (enligt årsgenomgång för 2023)

Analys	Låg kontroll		Hög kontroll	
	Börvärde (µmol/L)	CV%	Börvärde (µmol/L)	CV%
OH-Karbazepin	2	6	200	4
Eslikarbazepin	2	5	200	3
Topiramat	2	6	200	5
Klobazam	0,10	5	10	4
N-desmetylklobazam	0,50	5	50	5

Riktighet

Riktigheten kontinuerligt genom deltagande i externt kontrollprogram (LGC Standards Proficiency).

Spårbarhet

Kalibreringen är spårbar via analyscertifikat från respektive leverantör av referenssubstanser, se Bilaga 1.

Validering

Valideringen har utförts vid Klinisk Kemi Lund, Labmedicin Skåne. Riktigheten har verifierats genom jämförelse med de HPLC och LC-MS/MS metoder som tidigare var i bruk vid laboratoriet samt i vissa fall genom jämförelse med annat laboratorium. I samband med införande av upparbetning med robot gjordes en kompletterande valideringar av metoden där resultat från analys av patientprover samt interna kontroller jämfördes mellan manuell och automatiserad upparbetning.

Referenslitteratur

1. Reimers, A. et al. (2018). Reference ranges for antiepileptic drugs revisited: a practical approach to establish national guidelines. *Drug design, development and therapy* 12: 271-280
2. Ketter TA, Frye MA, Cora-Locatelli G, Kimbrell TA, Post RM. Metabolism and excretion of mood stabilizers and new anticonvulsants. *Cell Mol Neurobiol*, 1999,19:511-32.
3. Johannessen SI, Battino D, Berry DJ, Bialer M, Kramer G, Tomson T, Patsalos PN. Therapeutic drug monitoring of the newer antiepileptic drugs. *Ther Drug Monit.* 2003 Jun;25(3):347-63.
4. Zanotta N, Raggi ME, Radice L, Degrate A, Bresolin N, Zucca C. Clinical experience with topiramate dosing and serum levels in patients with epilepsy. *Seizure.* 2006 Mar;15(2):86-92.