Metodološki in klinični izzivi TDM – primeri iz prakse

dr. Dorian Dolanc

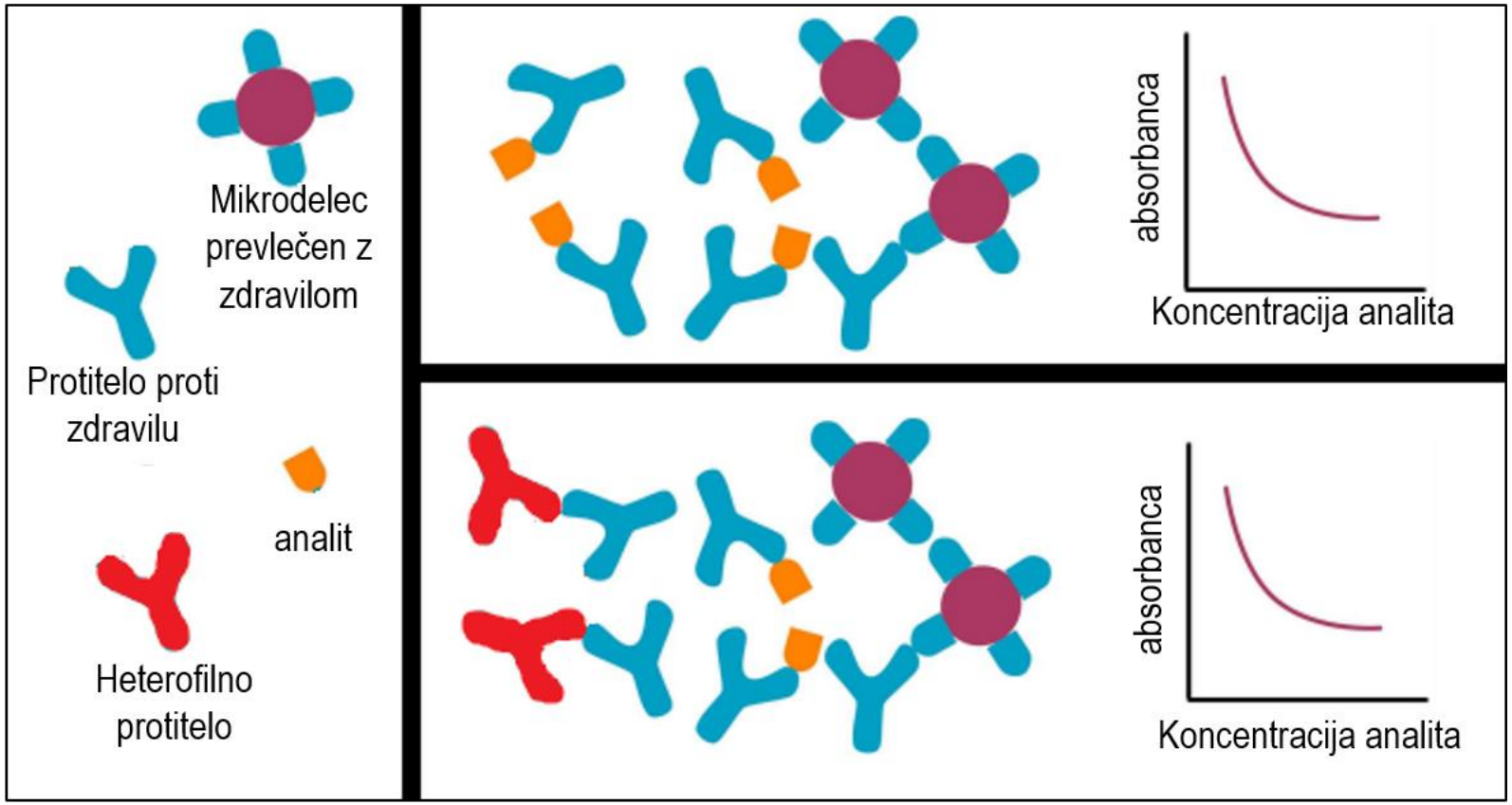
UVOD

- Interferenčna protitelesa
  - Nespecifična vezava na protitelesa v testu
  - Heterofilna protitelesa, RF, HAMA
  - Lažno visoki ali lažno nizki rezultati
- Navzkrižna reakcija z metaboliti zdravil
- Vloga albumina pri vezavi zdravil

Mehanizem interference

Turbidimetrični kompetitivni imunokemični test

- Kompetativna aglutinacijska inhibicija
- Interferenca = nespecifična vezava na protitelesa
- Imunokompleksi posnemajo reakcijo “več zdravila”



Povzeto po Sanavio in Kroll, 2015

Interference v praksi

- **Primer 1:**
  - Pred aplikacijo: pričakovano 5–10 µg/mL
  - Izmerjeno: 40 µg/mL
  - Po prekinitvi terapije: še vedno toksične vrednosti
  - Dilucija vzorca
  - Pacient hiperalergik → verjetna prisotnost imunskih kompleksov / heterofilnih protiteles
- **Primer 2:**
  - Imunokemični test: izjemno visoka vrednost imunosupresiva
  - LC-MS/MS: normalna vrednost
  - Potrjena akutna zavrnitev → imunski odziv
  - Verjetna prisotnost imunskih kompleksov / heterofilnih protiteles

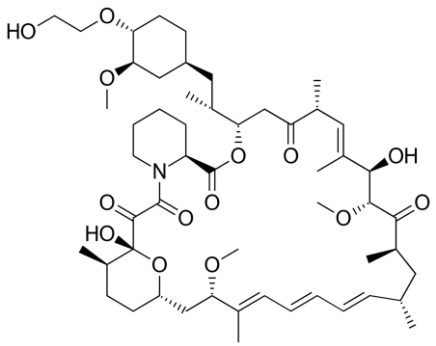
Metaboliti in navzkrižna reaktivnost

- **Zakaj so metaboliti lahko problem?**
  - Strukturna podobnost matične molekule
  - Velik delež metabolitov pri imunosupresivih
  - Imunokemični testi ne ločijo med zdravilom in presnovki

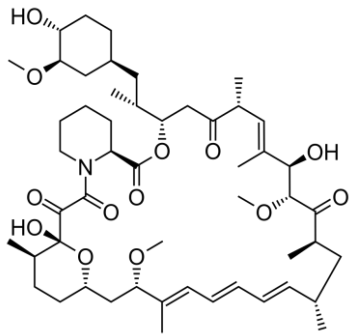
- **„Overspiking" testa za merjenje IMS - dodatek analita**
  - Kompenzacija za navzkrižno reaktivnost
  - Deluje pri stabilnih razmerjih metabolitov (primeri, ko ne?)

Metaboliti in navzkrižna reaktivnost

- **Strukturna podobnost → navzkrižno vezanje**
  - mTOR inhibitorji s skoraj identičnim vezavnim mestom
  - Posebej problematično pri menjavi terapije



Everolimus



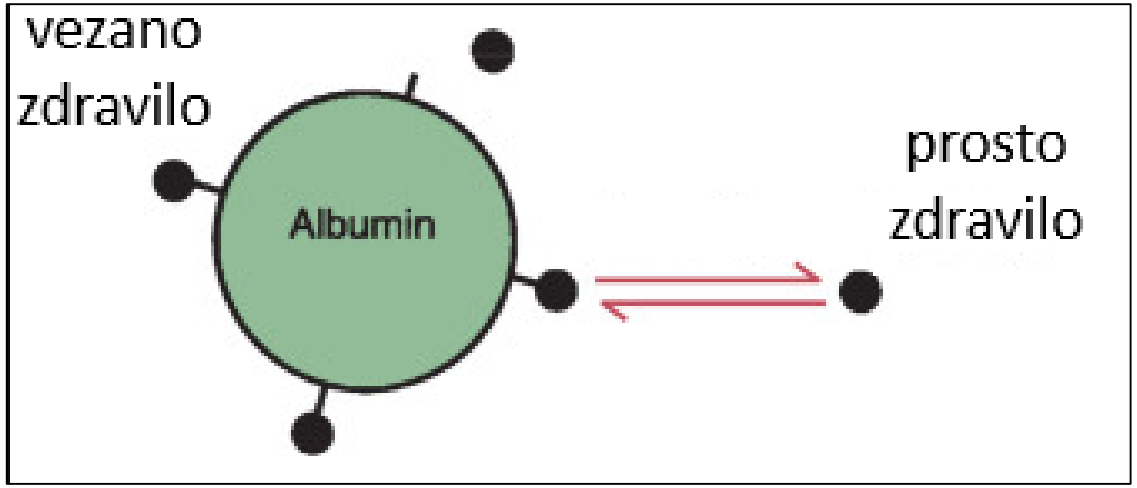
Sirolimus

Sirolimus and Sirolimus Metabolites			
Compound Tested	**Concentration Tested (ng/mL)**	**Recovered Concentration (ng/mL)**	**% Cross-Reactivity**
Sirolimus	10	9.94	46
Trihydroxy-sirolimus; 7,41-O-didesmethyl sirolimus	90	9.34	4
41-O-desmethyl-hydroxy sirolimus	90	8.55	3
41-O-desmethyl-hydroxy sirolimus; 7-O-desmethyl sirolimus	90	7.29	2
11-hydroxy sirolimus	90	16.43	12
Isomer of 11-hydroxy sirolimus	90	11.00	6
Hydroxy sirolimus	90	6.96	2
N-oxide sirolimus	90	12.10	7
Isomer of hydroxyl sirolimus or N-oxide sirolimus	90	6.71	1
41-O-desmethyl sirolimus; 32-O-desmethyl sirolimus	30	18.32	45

QMS Everolimus, Thermo.

Albumin in vezava zdravil

- **Prosta frakcija = aktivna frakcija**
  - Znižan albumin (< 35 g/L)⟶ več prostega zdravila
  - Problem pri septičnih bolnikih
  - Celokupna koncentracija lahko zavaja



Povzeto po Moini et al., 2023

- **Napake pri znižanem albuminu**
  - Prehitra eliminacija zdravila
  - Toksični učinki

- **Ključno je tesno sodelovanje med laboratorijem in kliniki**

Zaključek

- **Interference in drugi dejavniki so del vsakdanjega TDM**
  - Heterofilna protitelesa
  - Metaboliti zdravil
  - Albumin

- **Pravilna interpretacija = zanesljivi rezultati**

Zahvala

- prof. dr. Darko Černe, spec. med. biokem.
- dr. Jasna Lojk, dipl. biol.
- Matej Somrak, spec. med. biokem.
- Miriam Bučinel, mag. lab. biomed.
- Matija Kovačević, mag. lab. biomed.
- Darja Jeram

Reference

- Bolstad N, Warren DJ, Nustad K. Heterophilic antibody interference in immunometric assays. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2013, 27(5):647-61. doi: 10.1016/j.beem.2013.05.011.
- Amitava Dasgupta, Chapter 2 - Immunoassays and Issues With Interference in Therapeutic Drug Monitoring, Clinical Challenges in Therapeutic Drug Monitoring, Elsevier, 2016, Pages 17-44, doi: 10.1016/B978-0-12-802025-8.00002-7.
- CLSI. Interference Testing in Clinical Chemistry. 3rd ed. CLSI guideline EP07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- CLSI. Immunoassay interference by Endogenous Anibodies; Approved Guideline. CLSI document I/LA30-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- Mathijssen, R. H. J., Sparreboom A., Verweij J. Determining the optimal dose in the development of anticancer agents. Nat. Rev. Clin. Oncol. 2014, doi:10.1038/nrclinonc.2014.40.
- Preissner, C., O'Kane D, Singh R., Morris J., Grebe S. Phantoms in the Assay Tube: Heterophile Antibody Interferences in Serum Thyroglobulin Assays. 2003, Journal of Clin. Endocrin. and Metab. 88. 3069-74. doi:10.1210/jc.2003-030122.
- Moini J., Logalbo A., Schnellmann J. G. Pharmacokinetics, Neuropsychopharmacology, Academic Press, 2023, Pages 29-53, doi: 10.1016/B978-0-323-95974-2.00024-4.