

LCMSMS-2

S-Haloperidol (NPU03937)

S-Olanzapin (NPU09358)

S-Desmetylolanzapin (NPU21713)

S-Risperidon (NPU04868)

S-9-OH-Risperidon, S-Paliperidon (NPU18359)

S-Mirtazapin (NPU14028)

S-Desmetylmirtazapin (NPU21714)

S-Vortioxetin (NPU29832)

S-Karboxyvortioxetin (SKA06794)

Bakgrund, indikation och tolkning

Haloperidol, olanzapin och risperidon tillhör gruppen antipsykotika (neuroleptika). Den huvudsakliga indikationen för koncentrationsbestämning är frågeställningar gällande ”compliance” och över- eller underdosering. Svar lämnas även på metaboliterna 9-OH-risperidon (paliperidon) och desmetylolanzapin (*N*-desmetylolanzapin) om analys av motsvarande modersubstans är beställd.

Mirtazapin och vortioxetin är antidepressiva läkemedel. Svar lämnas på metaboliterna, desmetylmirtazapin (*N*-desmetylmirtazapin) och karboxyvortioxetin om analys av motsvarande modersubstans är beställd.

Haloperidol: Antipsykotisk effekt relaterad till blockad av D2- och D3-receptorer. Substan- sen uppvisar linjär kinetik inom dosområdet vilket innebär att en dosändring förväntas ge en proportionell ändring av serumkoncentrationen. Haloperidol metaboliseras av CYP2D6 och CYP3A4, samt avvikande metabolism hos ultrasnabba eller långsamma metaboliserare på CYP2D6. Halveringstiden varierar i vanliga fall mellan 14 - 26 timmar. 2 – 25 nmol/L har föreslagits som referensområde [8] dock finns det inget entydigt samband mellan serumkon- centration och terapeutisk effekt. Extrapyrimidala biverkningar (EPS) är ovanliga vid låga koncentrationer, men förekommer oftare vid ökande koncentrationer. De flesta patienter har en individuell tröskel för vilken serumkoncentration som utlöser EPS. [1].

Olanzapin: Antipsykotisk effekt beror på bindning till muskarin-, dopamin- och 5-HT- receptorer. Preparatets affinitet är betydligt högre för 5-HT_{2A}- jämfört med D2-receptorer. Har låg affinitet för α - och β -adrenerga receptorer [2]. Olanzapin uppvisar linjär kinetik inom dosområdet. Halveringstiden varierar relativt mycket, mellan 20 och 55 timmar [3]. Olanzapin omvandlas via CYP1A2 och CYP2D6 till inaktiva metaboliter [4]. Vid dagliga doser mellan 2.5 och 30 mg fås hos 80 % av patienterna serumkoncentrationer mellan 10 och 270 nmol/L. Det har föreslagits ett referensområde på 20 – 240 nmol/L [8]. Serumkoncentration av olan- zapin kan påverkas vid samtidigt intag av andra läkemedel och andra omgivningsfaktorer. Rökning t.ex. ökar aktiviteten av CYP1A2. Var uppmärksam på att rökstopp medför en ök- ning av olanzapinkoncentrationen med risk för biverkningar.

Risperidon har sin huvudsakliga terapeutiska effekt genom att binda till 5-HT₂- och D₂-receptorer med högre affinitet för 5-HT₂ än för D₂ [5]. Risperidon binder också till α -adrenerga och H₁-receptorer. Risperidon uppvisar linjär kinetik inom dosområdet. Halveringstiden är beroende på CYP2D6-fenotyp och är normalt 3 timmar för risperidon och 20-24 timmar för huvudmetaboliten paliperidon. Hos ultrasnabba och hos långsamma metaboliserare är risperidons halveringstid kortare respektive längre [6]. Paliperidon (tidigare kallad 9-OH-risperidon) är den viktigaste metaboliten då den har samma farmakologiska aktivitet som risperidon. Den kliniska effekten beror på summan av risperidon och paliperidon. Paliperidon finns också som läkemedel (Invega®, Xeplion®). Det föreslagna referensområdet är 20-160 nmol/L (summan av risperidon + paliperidon) [8], dock finns inget säkert samband mellan serumkoncentration och antipsykotisk effekt. Flertalet studier antyder bäst effekt vid en dygnsdos på 6 mg/dygn. Data visar att denna dos ger serumkoncentrationer av risperidon + paliperidon mellan 50-150 nmol/L hos 90 % av patienterna. Risken för extrapyrimidala biverkningar ökar markant vid serumkoncentrationer överstigande 180 nmol/L [7].

Mirtazapin. Det finns inget säkert samband mellan serumkoncentration och effekt eller biverkningar. Mirtazapin uppvisar linjär kinetik inom det rekommenderade dosområdet och en dosändring förväntas därför ge en proportionell ändring av serumkoncentrationen. Mirtazapin metaboliseras huvudsakligen av CYP3A4 och CYP2D6 samt till en mindre del av CYP1A2. Det finns därför en signifikant potential för interaktioner med andra läkemedel som hämmar/inducerar CYP3A4 eller CYP2D6. Rökning inducerar CYP1A2. Var därför uppmärksam på att rökstopp medför ökade mirtazapinkoncentrationer med risk för biverkningar. Genetisk variation gör att ultrasnabba metaboliserare behöver mycket högre doser än normala metaboliserare. Föreslagit referensområde är 100 - 300 nmol/L [8].

De metabola riktområdena som anges i tabellen nedan medför att man kan jämföra given dos per dygn med serumkoncentrationen. Data i tabellen är medianvärdet samt 10:e till 90:e percentilen av observerade koncentrationsbestämningar.

Dos (mg/dygn)	15	30	45	60	75	90
S-mirtazapin (nmol/L)						
Observerade koncentrationer						
Median	84	120	155	190	230	290
10:e och 90:e percentil	35-180	55-235	70-290	75-370	70-445	120-520
N-desmetyl-mirtazapin (nmol/L)						
Observerade koncentrationer						
Median	50	75	100	125	170	200
10:e och 90:e percentil	30-80	40-125	40-160	60-215	65-310	100-250

Vortioxetin (Brintellix)

Verkningsmekanismen för vortioxetin tros vara relaterad till dess direkta modulering av serotonerg receptoraktivitet och hämning av serotonin(5-HT)-transportören. Icke-kliniska data

indikerar att vortioxetin är en 5-HT₃, 5-HT₇ och 5-HT_{1D} receptorantagonist, 5-HT_{1B} partiell receptoragonist, 5-HT_{1A} receptoragonist och hämmare av 5-HT-transportören, vilket leder till modulering av neurotransmissionen. Antagligen påverkas också de noradrenerga, dopaminerga, histaminerga, acetylkolinerga, GABA-minerga och glutaminerga systemen. Denna multimodala aktivitet anses svara för de antidepressiva och anxiolytiska effekterna.

Vortioxetin metaboliseras till inaktiva metaboliter, främst genom oxidering katalyserad av CYP2D6 och i mindre utsträckning CYP3A4/5 och CYP2C9, samt efterföljande konjugering av glukuronsyra.

Den primära inaktiva karboxylsyrametaboliten bildas via CYP2D6 oxidering. Detta betyder att långsamma metaboliserare av CYP2D6 har en plasmakoncentration av vortioxetin som är ungefär dubbelt så hög som ”normala” metaboliserare. Därutöver, beroende på den enskilda patientens svar, kan en lägre dos vortioxetin övervägas om en kraftig CYP2D6-hämmare (t ex bupropion, kinidin, fluoxetin, paroxetin) adderas till vortioxetinbehandlingen.

Beroende på den individuella patientens svar kan en dosökning behövas om en cytokrom P450-inducerare (t ex rifampicin, karbamazepin, fenytoin) adderas till vortioxetinbehandlingen. Vortioxetin har en linjär, dos-proportionell kinetik vid doser på 2,5 till 60 mg/dag. Genomsnittlig halveringstid är 66 timmar.

Som referensområde för serumkoncentrationer har 30 – 130 nmol/L föreslagits [8].

Analysprincip

Metoden analyserar risperidon, paliperidon (9-OH-risperidon) och haloperidol med dess deutererade analoger (risperidon-d₄, 9-OH-risperidon-d₄ samt haloperidol-d₄) som intern standard (IS), olanzapin och desmetylolanzapin (*N*-desmetylolanzapin) med olanzapin-d₈ som IS samt mirtazapin och desmetylmirtazapin (*N*-desmetylmirtazapin) med mirtazapin-d₃ som IS. Vortioxetin och karboxyvortioxetin analyseras med sina ¹³C₆ analoger som IS. Serum blandas med acetonitril som innehåller IS, centrifugeras, varefter supernatanten efter spädning analyseras med masspektrometri (LC-MS/MS), en teknik med god känslighet och mycket hög specificitet.

LC-MS/MS instrumentet är av typen trippel kvadrupol masspektrometer kopplat till en HPLC. Separation av olika provmolekyler sker i 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 molekyljonen för aktuell komponent. I andra kvadrupolen fragmenteras molekyljonen med en för denna jon specifik energi och i den tredje kvadrupolen selekteras ett av molekyljonens fragment, vanligtvis det med störst intensitet. Den resulterande jonintensiteten mäts med en elektronmultiplikator.

Referensintervall

Riktområde

Risperidon + Paliperidon	20 - 160 nmol/L (avser summan)
Paliperidon (tidigare kallad 9-OH-Risperidon)	10 - 90 nmol/L
Haloperidol	2 - 25 nmol/L
Olanzapin	20-240 nmol/L
Desmetyloanzapin	Inte aktuellt
Mirtazapin	100 - 300 nmol/L
Desmetylmirtazapin	Inte aktuellt
Vortioxetin	30 - 130 nmol/L
Karboxyvortioxetin	Inte aktuellt

Metodkaraktistika

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

Komponent	Kvantifieringsgräns, nmol/L	Mätintervall, nmol/L
Risperidon	0,80	0,80-500
9-OH-Risperidon	0,80	0,80-500
Haloperidol	0,80	0,80-500
Olanzapin	0,80	0,80-500
Desmetyloanzapin	0,80	0,80-500
Mirtazapin	0,80	0,80-500
Desmetylmirtazapin	0,80	0,80-500
Vortioxetin	4,0	4,0-2500
Karboxyvortioxetin	8,0	8,0-5000

Mätosäkerhet (enligt årsgenomgång för 2019)

Komponent	Låg kontroll		Hög kontroll	
	Börvärde (nmol/L)	CV%	Börvärde (nmol/L)	CV%
Risperidon	3,2	8	315	7
9-OH-Risperidon	3,2	8	307	9
Haloperidol	3,2	10	316	6
Olanzapin	3,7	7	370	5

Desmetylolanzapin	3,7	7	360	6
Mirtazapin	3,1	10	315	6
Desmetylmirtazapin	2,9	8	285	7
Vortioxetin	15	8	1500	4
Karboxyvortioxetin	32	10	3000	6

Riktighet

Riktigheten kontrolleras kontinuerligt genom deltagande i externt kontrollprogram (LGC Standards Proficiency) omfattande alla utom desmetylolanzapin, vortioxetin och karboxyvortioxetin.

Spårbarhet

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

Validering

Valideringen har utförts vid Klinisk kemi [10]. Riktigheten har verifierats genom jämförelse med de HPLC-metoder och LC-MS/MS metod på annat instrument som tidigare var i bruk vid laboratoriet.

I samband med införande av uppärbetning med robot gjordes en kompletterande validering av metoden där resultat från analys av patientprover samt interna kontroller jämfördes mellan manuell och automatiserad uppärbetning [10].

Övrig information

Metoden är ackrediterad.

Normal analysfrekvens är en gång i veckan.

Referenser

1. Morselli et al. 1982. Therapeutic Drug Monitoring 4, 51-58. 2.
2. Fulton et al. Drugs 1997;53:281-298.
3. Callaghan et al. Clin. Pharmacokinetic. 1999;37:177-193
4. Kassahun et al. Drug Metab. Dispos 1997;25:81-93.
5. Kerwin et al. Br. J. Psychiatry 1993;163:833-840.
6. Huang et al Clin Pharm Ther. 1993;54:257-268.
7. Spina et al. Psychopharmacology 2001;153:238-243
8. Hiemke C et al. Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring in Neuropsychopharmacology: Update 2017. Pharmacopsychiatry. 2018 Jan;51(1-02):9-62
9. Dahl SG. Plasma Level Monitoring of Antipsychotic Drugs Clinical Utility, Clin Pharmacokinetics 11:36-61 (1986)
10. Valideringsprotokoll, Klinisk kemi och farmakologi
11. [C-7506, Instrumenthandledning LCMSMS AB Sciex QTrap 5500-1, Lund](#)
12. [C-7656, Instrumenthandledning LCMSMS Beräkningar](#)
13. [17-320, Hamilton Microlab STARlet Robot \(Mercurius och Venus\)](#)
14. [16-1092, Instruktion för utvärdering på LC-MS](#)
15. [17-197, Analysprotokoll LCMS-2](#)
16. [C-7665, Serum av plasma, Lund](#)