



Ruolo del Laboratorio: monitoraggio dei farmaci

Testo tratto ed approfondito dall'intervento della

Dott. Maria Lucia Carati

*Medico Chirurgo Specialista in Medicina di Laboratorio,
già direttore SC Laboratorio Analisi Ospedale S. Gerardo Monza*

Sommario

1. Scopi del laboratorio	2
2. Il referto di laboratorio: caratteristiche, intervalli di riferimento, genesi del referto	2
2.1 Caratteristiche	2
2.2 Intervalli di riferimento	2
2.3 Ciclo di Lundberg.....	3
2.4 Variabilità.....	3
3. Concetti di statistica. Il “ciclo produttivo” del laboratorio.....	3
3.2 Fase preanalitica	3
3.3 Fase analitica	4
Statistica	4
Strumentazione	5
3.4 Fase postanalitica.....	5
3.5 Variabilità biologica.....	5
4. Farmacologia: definizione e applicazione in laboratorio	6
5. Farmacodinamica e Farmacocinetica.....	6
6.1 Therapeutic Drug Monitoring (TDM Monitoraggio farmaci)	8
6.2 Meccanismo di azione dei farmaci	8
7. Farmaci neurolettici: meccanismo d'azione, potenziali effetti collaterali, cenni a metodi di dosaggio ...	9



1. Scopi del laboratorio

Si vuole documentare, cercare un riscontro, confermare o escludere una diagnosi clinica.

Si vorrebbero risposte chiare e definitive, ma purtroppo non esiste una correlazione univoca tra i dati di laboratorio e uno stato di malattia, se non in alcuni particolari test di tipo genetico.

Tuttavia, la letteratura segnala che almeno il 70% delle decisioni cliniche si basa sull'utilizzo di dati di laboratorio. La diagnostica di laboratorio è una parte fondamentale, direi un prerequisito, per un corretto orientamento della diagnostica clinica e dei conseguenti suggerimenti clinici.

Oggi è impensabile fare a meno dei dati di laboratorio.

2. Il referto di laboratorio: caratteristiche, intervalli di riferimento, genesi del referto

2.1 Caratteristiche

Alcuni esami sono caratterizzati da risposte di tipo qualitativo (presente assente positivo negativo) che sono di comprensione immediata.

Altri esami forniscono dei valori numerici. In queste tipologie di esami la situazione è più complessa: occorre definire dei valori di riferimento o, meglio, degli intervalli di riferimento.

2.2 Intervalli di riferimento

Oggi la definizione è di "valori di riferimento" e non più di "valori normali". Si devono definire gli "intervalli di riferimento"¹

Gli intervalli di riferimento rappresentano i valori attesi in una popolazione sana.

Come si ottengono: ogni laboratorio dovrebbe calcolare i propri sulla base della popolazione studiata, sulla base delle proprie modalità di lavoro e specificamente sulla base delle strumentazioni e delle metodologie utilizzate.

Lo sforzo della medicina di laboratorio è quello di fornire non solo un dato numerico, ma un valore che diventi una indicazione di tipo clinico: per questo si parla ad es. di "valore desiderabile" cioè correlato ad una stratificazione clinica, e addirittura in alcuni casi il laboratorio si spinge a parlare di valori decisionali.

¹ L'intervalle di riferimento è un insieme di valori, delimitati da un limite inferiore ed un limite superiore, entro il quale è possibile racchiudere una serie di risultati di laboratorio eseguiti su un campione di persone sane



2.3 Ciclo di Lundberg

Il ciclo di Lundberg rappresenta il percorso che inizia dal paziente, dal quesito clinico, per arrivare ad un esito, un referto. Ci sono due parti (clinica e laboratorio) che si devono interfacciare per arrivare a generare informazioni utili per il paziente. È in questa fase che si parla di appropriatezza della richiesta per evitare esami inutili o talvolta fuorvianti

2.4 Variabilità

È importante introdurre il concetto di variabilità che può essere definita l'attitudine di un carattere² ad assumere diverse modalità quantitative: in altre parole rappresenta la quantità di dispersione³ presente nei dati di laboratorio.

3. Concetti di statistica. Il “ciclo produttivo” del laboratorio

Il ciclo produttivo del laboratorio si può suddividere in tre fasi

- fase preanalitica
- fase analitica
- fase postanalitica

Le definizioni sono intuitive.

3.2 Fase preanalitica

La letteratura dice che gli errori di laboratorio sono per il 70% a carico di questa fase che apparentemente sembrerebbe la più semplice.

Possibili cause:

Richiesta inappropriata di esami,

Sul paziente:

- inadeguata preparazione,
- modalità di raccolta dei campioni biologici non corretta,
- assunzione di farmaci,
- non rispetto del digiuno,
- errata identificazione del paziente.

Sul laboratorio:

- modalità di prelievo non corrette,

² In statistica un carattere è il tipo di informazione su cui si concentra una Indagine statistica: ad esempio, l'età, l'altezza, il reddito medio.

Molti sociologi e politologi preferiscono ricorrere, per indicare lo stesso concetto, all'espressione proprietà, mentre gli psicologi utilizzano anche l'espressione tratto.

³ La dispersione misura quanto i valori rilevati distano da un valore centrale scelto come riferimento



- utilizzo di provette non idonee (ricordiamo che il colore dei tappi delle provette si riferisce alla presenza di anticoagulanti diversi che, essendo sostanze chimiche, possono generare interferenze nei dosaggi),
- conservazione inadeguata dei campioni, modalità di trasporto dei campioni, ad es. senza osservare le corrette condizioni di temperatura

Le recenti indicazioni di Regione Lombardia sulle concentrazioni delle attività dei laboratori hanno focalizzato l'attenzione su questi aspetti e la Regione stessa ha deliberato indicazioni e raccomandazioni da rispettare per tutelare la qualità dei dati.

Tutto questo influenza il lavoro intrinseco del laboratorio nella fase analitica: il laboratorio dosa quello che gli arriva.

3.3 Fase analitica

La fase analitica, che è di stretta pertinenza del laboratorio, è la più impegnativa dal punto di vista tecnico.

Quali sono i mezzi a disposizione del laboratorio per affrontare e risolvere queste problematiche?

- **Statistica**
- **Strumentazione**

Statistica

Il Laboratorio utilizza delle regole statistiche molto rigide per verificare la correttezza analitica.

A scopo esemplificativo ricordo uno dei principi fondamentali della statistica, la Distribuzione Gaussiana⁴ che si può definire come distribuzione di probabilità di una misura.

Gli intervalli di riferimento in genere coprono i valori riscontrati nel 95% delle persone sane, ma il 5% è fisiologicamente al di fuori dell'intervallo di riferimento

⁴ Che cos'è la curva Gaussiana?

	<p>Facciamo un esempio, si spera, intuitivo:</p> <p>Vogliamo preparare 100 torte da 1kg. A preparazione finita le pesiamo e riportiamo su un grafico quante torte abbiamo ottenuto per ciascuna fascia di peso. Sicuramente otterremo una curva simile a quelle mostrate qui a sinistra. Le curve sono tutte centrate su 1kg (cioè la maggior parte delle torte peseranno circa 1kg) ma sono più o meno appiattite. La curva col picco più alto (verde) ci dice che abbiamo lavorato con precisione, la curva più bassa (arancio) ci dice che abbiamo lavorato con trascuratezza o con strumenti inadeguati. Si dice che la curva più appuntita presenta una piccola dispersione, mentre la curva più piatta presenta un'elevata dispersione.</p> <p>Anche per i risultati degli esami di laboratorio vale la curva gaussiana: più la curva è aguzza più i risultati sono ripetitivi e precisi.</p>
--	---



L'imprecisione è la dispersione tra misure ripetute rispetto ad un valore medio (allontanamento dalla media) e riflette l'errore casuale. Si valuta analizzando lo stesso campione più volte.

L'inaccuratezza può anche essere definita come la differenza tra il valore misurato e il valore vero e riflette un errore sistematico del metodo adottato.

In pratica il controllo si effettua utilizzando sieri di controllo, cioè campioni appositamente predisposti con quantità note di vari componenti e sottoposti ad analisi contemporaneamente ai sieri dei pazienti. In ogni gruppo di analisi relative a sieri di pazienti vi saranno così dati che si riferiscono ad un siero di controllo. La concordanza tra i valori analitici e quelli noti dei composti usati come calibratori garantirà la correttezza analitica dei risultati.

Sinteticamente il laboratorio esegue regolarmente dei "Controlli di Qualità" interni ed esterni che, se non sono rispettati, impediscono il rilascio delle analisi e costringono il laboratorio alla ripetizione dell'analisi stessa.

Strumentazione

Fortunatamente negli ultimi anni le strumentazioni di laboratorio si sono perfezionate ed evolute, sostituendosi a molte attività manuali. Naturalmente gli strumenti devono essere correttamente guidati e utilizzati, come tutte le macchine.

3.4 Fase postanalitica

Accenniamo brevemente a questa fase dove il risultato, che possiamo considerare il prodotto finale del lavoro del laboratorio, deve essere comunicato tempestivamente, in maniera chiara e semplice in modo da essere veramente un ausilio diagnostico in una collaborazione fattiva con il paziente ed il medico curante.

3.5 Variabilità biologica

Variabilità biologica è la fluttuazione naturale che ciascun analita⁵ ha attorno al proprio punto omeostatico⁶ all'interno di un fluido biologico, fluttuazione dovuta a fattori caratterizzati da specifiche condizioni biologiche.

Vi è una variabilità biologica interindividuale ed una variabilità biologica intraindividuale:

La variabilità biologica interindividuale è la variabilità tra individui diversi: il concetto è intuitivo, legato a etnia, sesso, condizioni di vita ecc...

La variabilità biologica intraindividuale è la differenza di risultati che si ottiene ripetendo lo stesso test più volte. In un individuo esiste una buona probabilità statistica che lo stesso test ripetuto sulla stessa persona, per quanto in buona salute, cada almeno una volta al di fuori degli intervalli di riferimento (età cicli ormonali, attività fisica).

⁵ Con "Analita", nell'analisi chimica quantitativa, si definisce una sostanza disiolta in soluzione con concentrazione da definire.

⁶ Con "Punto Omeostatico" si intende la concentrazione ottimale (o meglio di equilibrio) di una sostanza in un fluido corporeo in condizioni standard.



4. Farmacologia: definizione e applicazione in laboratorio

Occupiamoci adesso delle correlazioni tra una terapia farmacologica e gli esami di laboratorio
Riprendiamo il concetto di Paracelso⁷: "Tutte le sostanze sono veleni: è la quantità corretta che differenzia un rimedio da un veleno"

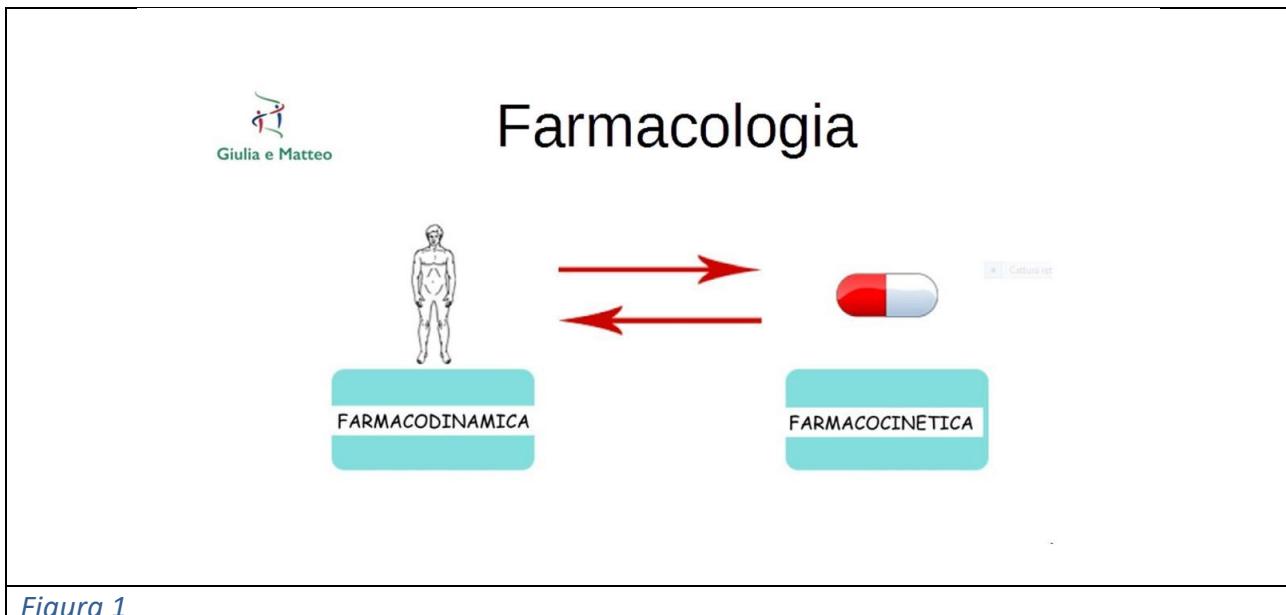
Ritengo che questa frase pronunciata circa 500 anni fa sia tuttora valida in quanto sintetizza la capacità delle medicine da un lato di guarire e dall'altro di essere potenzialmente dannose.

La sfida in medicina è quella di trovare la dose ottimale di farmaco che aiuti il paziente procurandogli il rischio minore

Possiamo suddividere la Farmacologia in Farmacodinamica e Farmacocinetica.

5. Farmacodinamica e Farmacocinetica

Definizione di Farmacodinamica: studio degli effetti biochimici e fisiologici che i farmaci hanno sull'organismo. Definizione di Farmacocinetica: studio degli effetti che i processi dell'organismo hanno sul farmaco (assorbimento, distribuzione, ADME⁸). Il farmaco percorre un tragitto all'interno dell'organismo che può provocare effetti sugli organi deputati al suo metabolismo (soprattutto epatico).



7



Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim, detto Paracelsus, o Paracelso (Einsiedeln, 14 novembre 1493 – Salisburgo, 24 settembre 1541), è stato un medico, alchimista e astrologo svizzero.

Paracelso o "Paracelsus" è una delle figure più rappresentative del Rinascimento. Si laureò all'Università di Ferrara, più o meno negli stessi anni in cui si laureò Niccolò Copernico.

⁸ ADME: Abbreviazione di "Assorbimento, Distribuzione, Metabolismo ed Escrezione", i quattro processi chiave usati per descrivere in che modo medicinali e sostanze chimiche entrano nell'organismo, cosa succede una volta che si trovano al suo interno e in che modo vengono eliminati.



In teoria ogni sostanza dovrebbe essere ricercata e dosata. Nella pratica il campo è circoscritto a sostanze che abbiano una utilità clinica e che siano “rintracciabili” con metodiche sicure e affidabili.

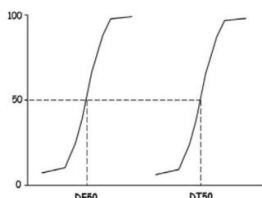
Il problema non è solo cosa dosare, ma anche le piccolissime quantità che devono essere misurate in laboratorio.

Relativamente ai farmaci si parla di microgrammi (1 milionesimo di grammo) e nanogrammi (1 miliardesimo di grammo)

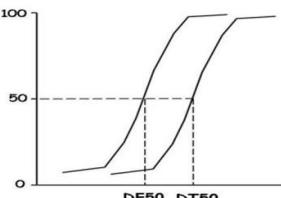
L'effetto di molti farmaci viene monitorato attraverso segni e sintomi clinici (vedi ad esempio farmaci antipertensivi e valori pressori); in altri casi il valore di laboratorio è dirimente (vedi ad esempio glicemia e dosaggio insulinico consigliato). Questo è particolarmente delicato per quei farmaci che hanno un indice terapeutico stretto⁹.

⁹ Indice Terapeutico: Per margine terapeutico o indice terapeutico s'intende la distanza tra la dose necessaria per avere l'effetto farmacologico e la dose che provoca un effetto tossico. La definizione corretta di indice terapeutico è: il rapporto tra la dose di farmaco che provoca tossicità nel 50% degli individui (DT50) e la dose efficace che provoca una risposta terapeuticamente utile nel 50 % degli individui (DE50). Tanto più sono distanti queste due dosi e tanto più sicuro è il farmaco, e viceversa.

Indice terapeutico: rapporto tra efficacia e tossicità



Alto



Basso

Farmaci con un alto indice terapeutico (curva di sinistra) sono farmaci “più facili” cioè sono farmaci che richiedono controlli più blandi rispetto a quelli con un basso indice terapeutico (curva di destra).



6. TDM¹⁰: cenni al meccanismo d'azione dei farmaci, recettori, indice terapeutico

6.1 Therapeutic Drug Monitoring (TDM Monitoraggio farmaci)

Possiamo collocare questa disciplina tra farmacodinamica e farmacocinetica

Dagli anni 60 si è iniziato a capire l'importanza di dosare almeno alcuni farmaci e quindi la ricerca si è sviluppata per questi scopi

- aggiustare la dose per il singolo paziente
- verificare l'adesione alla terapia
- prevenire sovradosaggi ed effetti tossici

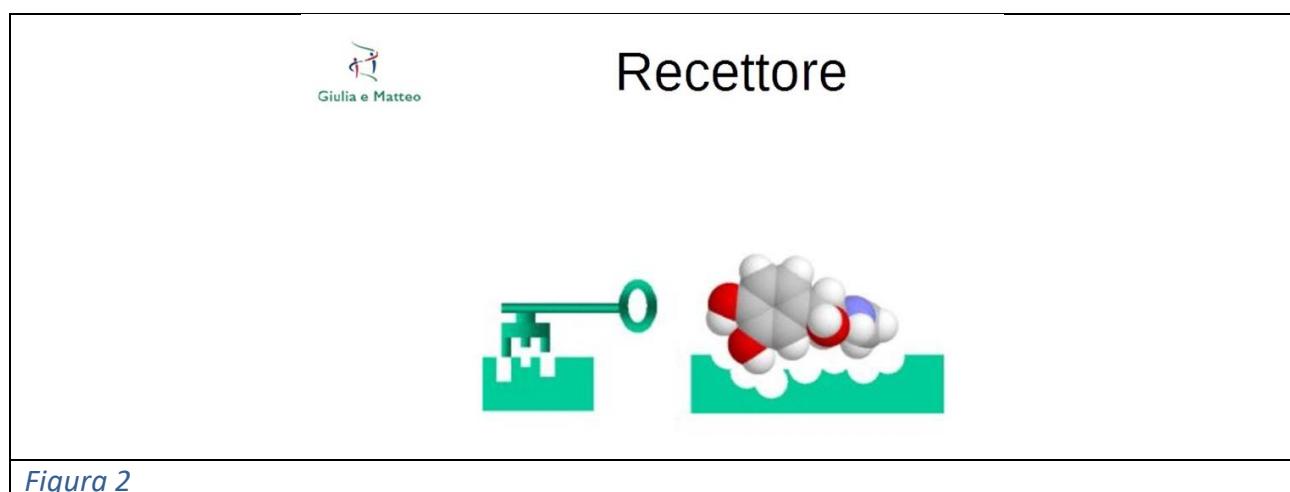
Devono essere monitorati quei farmaci che hanno un indice /range terapeutico stretto, che dimostrano un comportamento farmacocinetico variabile e per i quali l'efficacia e la tossicità sono difficili da verificare soprattutto durante le fasi iniziali di terapia.

TDM è standardizzata con metodi analitici precisi e affidabili per tre categorie di Farmaci: antibiotici particolari, immunosoppressori, antiepilettici.

6.2 Meccanismo di azione dei farmaci

Meccanismo d'azione dei farmaci: cercando di semplificare la definizione possiamo dire che provocano modificazioni fisiche o biochimiche nel loro sito di azione¹¹.

Una volta attaccato il recettore (Figura 2) l'azione del farmaco si manifesta aprendo il recettore, inducendo o bloccando la formazione e il rilascio di sostanze spesso ubiquitarie ed essenziali per l'organismo.



¹⁰ TDM: Therapeutic Drug Monitoring (TDM Monitoraggio farmaci)

¹¹ Il sito d'azione è il punto dove il farmaco deve espletare il suo effetto farmacologico. Il farmaco agisce attraverso il legame con un RECETTORE che è una proteina della cellula che riconosce il farmaco e ne permette l'ingresso al suo interno.



L'azione farmacologica è correlata alla concentrazione presso il recettore. Tuttavia, ad oggi non è praticabile misurare la concentrazione del farmaco nel punto del recettore, ma la letteratura ci dice che esiste una buona correlazione tra la concentrazione nel sangue e l'effetto farmacologico.

Gli effetti dei farmaci sono di tipo Biologico (in vivo) e Chimico (di struttura).

Biologico: inibizione enzimatica, induzione di enzimi epatici, legami con il sito recettoriale. Questi meccanismi sono responsabili di alcune modificazioni a livello degli esami ematochimici¹².

Chimico: sostanze che per la loro conformazione sono in grado di indurre modificazione fisiche all'interno dell'organismo (lassativi, mannitollo).

7. Farmaci neurolettici: meccanismo d'azione, potenziali effetti collaterali, cenni a metodi di dosaggio

I farmaci neurolettici comprendono **Antiepilettici** e **Antipsicotici**.

Gli **Antiepilettici storici** (detti anche di Prima Linea) sono monitorabili in laboratorio con metodi standardizzati e affidabili, mentre solo per alcuni antiepilettici di **seconda generazione** (detti anche aggiuntivi) sono disponibili metodi di laboratorio praticabili.

Analogamente solo alcuni **antipsicotici** sono dosabili.

Torniamo nel nostro organismo: diversi fattori influenzano la distribuzione del farmaco: alcuni sono intrinseci all'organismo (età, sesso, peso, malattie renali, malattie epatiche, stato di idratazione e di nutrizione), altri sono esterni (sommministrazione di cibo o altre sostanze che competono con il farmaco)

Fattori preanalitici da ricordare: accuratezza della dose, tempo di prelievo, raccolta e manipolazione del campione, modifiche fisiologiche del paziente (variazioni albumina)

Fattori analitici: metodi precisi e definitivi (cosiddetti di riferimento) sono molto lunghi, complessi e non praticabili in un laboratorio clinico.

Tuttavia, sono attualmente disponibili metodi immunochimici¹³ che, oltre alla molecola originaria degli Antiepilettici Storici, sono in grado di rilevare anche i loro metaboliti biologicamente attivi, quali:

fenobarbital, valproato, carbamazepina, fenitoina, etosuccimide. In alcuni casi il dosaggio viene eseguito anche in urgenza per sospetta intossicazione (valproato).

¹² Gli esami ematochimici sono esami di laboratorio eseguiti per accettare la presenza e/o dosare la concentrazione di alcune sostanze in un campione di sangue.

¹³ L'immunoanalisi è una disciplina immunologica che si prefigge di studiare gli antigeni, gli anticorpi e l'interazione antigene-anticorpo utilizzando i concetti ed i metodi che appartengono alla chimica. La sua applicazione in laboratorio consente di identificare e quantizzare una sostanza all'interno dell'organismo tramite il suo "legame" o meno ad anticorpi specifici.

Solo per alcuni farmaci di più recente introduzione (felbamato, gabapentin, lamotrigina, levetiracetam, oxcarbazepina, tiagabina, topiramato, vigabatrin) sono disponibili dosaggi affidabili.

Oltre all'azione anticonvulsivante gli antiepilettici vengono utilizzati anche in psichiatria.

Le modalità con cui i farmaci neurolettici si legano ai diversi recettori spiegano il loro meccanismo d'azione e i loro potenziali effetti collaterali.

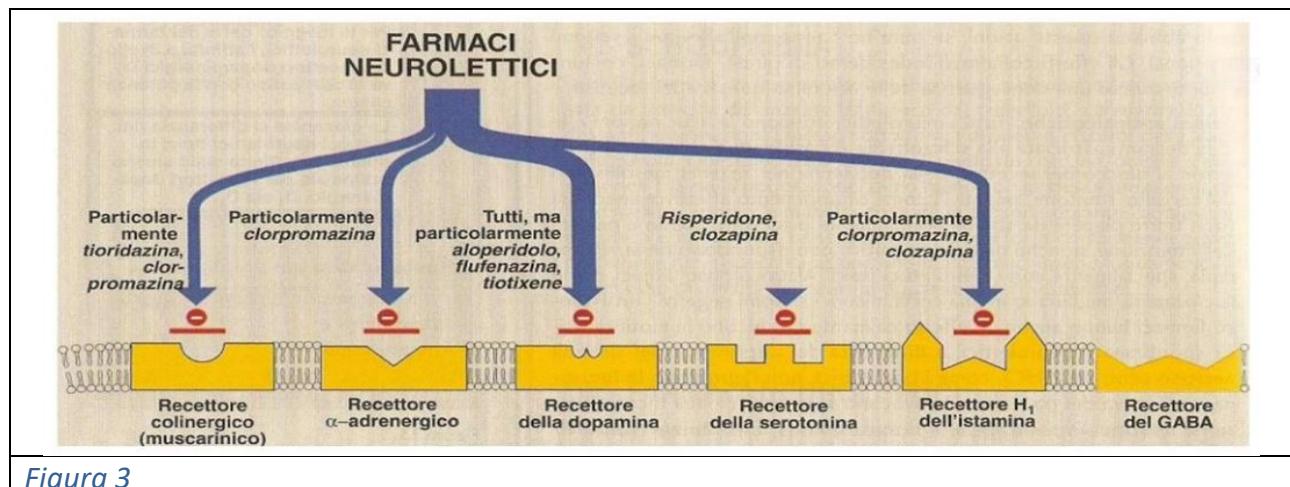


Figura 3

Meccanismo d'azione: inibiscono l'eccitabilità neuronale attraverso:

- produzione di GABA (Gamma-Amino Butyric Acid), un neurotrasmettore con funzioni inibitorie
- blocco dei canali del calcio
- blocco dei canali del sodio tramite GABA

Il loro metabolismo è per via epatica attraverso il Cytocromo P

Le molecole di più recente introduzione richiedono metodi analitici più complessi (ad esempio lamotrigina, levetiracetam). Da pochi anni regione Lombardia riconosce nel SSR¹⁴ il dosaggio di questi farmaci.

Il loro metabolismo è soprattutto renale.

LITIO: inibisce una proteina che influenza la polarità neuronale e compete con il Magnesio che è fondamentale per l'attività di questa proteina. Il picco viene raggiunto dopo 2-4 h ed è eliminato in 2 fasi (24 e 72 h) a livello renale dove viene riassorbito: questo può provocare fenomeni di tossicità.

Antidepressivi triciclici: bloccano serotonina e norepinefrina, hanno anche un assorbimento gastrico: sono caratterizzate da una biodisponibilità variabile e di conseguenza le risposte cliniche sono variabili. Presentano difficoltà analitiche per basse concentrazioni e cross-reazione con antistaminici. Sono disponibili dosaggi con metodiche complesse LiquidoMassa (laroxyl, trittico, anafranil)

¹⁴ SSR: Servizio Sanitario Regionale



Antidepressivi SSRI: inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (prozac cytalopram) La serotonina o 5-idrossitriptamina è una triptamina, sintetizzata a partire dall'amminoacido triptofano, che negli animali viene per lo più prodotta dai neuroni serotoninergici. Questa proteina derivata dal triptofano è presente nelle piastrine, nel plasma e nel sistema nervoso centrale; è dotata di azione stimolante sulla muscolatura liscia e di azione antiemorragica; è mediatore chimico dell'infiammazione e della trasmissione degli impulsi nervosi.

Farmaci Antipsicotici: I farmaci antipsicotici si distinguono in tipici ed atipici (la suddivisione è legata alla struttura chimica).

Farmaci antipsicotici tipici



Antipsicotici Tipici

Principio Attivo	Nome Commerciale
Clotiapina	Entumin
Promazina	Talofen
Levosulpiride	Levopraid
Clorpromazina	Largactil
Aloperidolo	Serenase

Figura 4

Gli antipsicotici tipici, chiamati anche antipsicotici di prima generazione, sono una classe di antipsicotici sviluppati a partire dal 1950 ed utilizzati per la cura di patologie psichiatriche. Antipsicotici tipici possono anche essere usati per il trattamento di mania acuta, agitazione e altre condizioni. Il meccanismo di azione si basa sul blocco degli effetti della dopamina.

Farmaci antipsicotici atipici



Antipsicotici Atipici

Principio Attivo	Nome Commerciale
Olanzapina	Zyprexa
Clozapina	Leponex
Quietapina	Seroquel
Risperidone	Risperdal
Aripiprazolo	Abilify

Figura 4



Gli antipsicotici di seconda generazione, detti anche antipsicotici atipici, agiscono bloccando sia gli effetti della dopamina, sia della serotonina, sostanza che regola numerose funzioni dell'organismo. Hanno assorbimento rapido e variabile; vengono metabolizzati per via epatica e presentano cross-reazione con antistaminici.

Attualmente gli antipsicotici atipici sono più utilizzati per una migliore tollerabilità e minori effetti collaterali di tipo extrapiramidale¹⁵.

Purtroppo, questi farmaci presentano effetti metabolici importanti; ne deriva la necessità di un monitoraggio clinico ed ematochimico (controllo ad esempio di emocromo, glucosio, colesterolo) Tutti gli antipsicotici hanno effetti endocrinologici e metabolici.

Inoltre, possono produrre iperprolattinemia¹⁶: effetto legato a farmaci che bloccano recettori dopaminici, antagonisti della dopamina (setoclopramide, domperidone, aloperidolo, risperidone). Di conseguenza risulta utile il controllo periodico del dosaggio della prolattina.

In sostanza nelle terapie con farmaci neurolettici è opportuno eseguire a cadenze regolari (semestrali/annuali) e comunque secondo indicazione clinica i seguenti controlli:

- Funzionalità epatica
- Funzionalità renale
- Metabolismo glico-lipidico
- Endocrinologico

Inoltre, al primo trattamento, è opportuno effettuare un controllo periodico (6-12 settimane, trimestrale, annuale) di:

- Glicemia
- Colesterolo TGL HDL
- Emoglobina glicata
- Prolattina

¹⁵ I disturbi più caratteristici, dovuti ad alterazioni del sistema extrapiramidale, sono: l'ipertonia extrapiramidale (aumento patologico del tono muscolare), l'impoverimento e la scomparsa di determinati movimenti e la comparsa di movimenti involontari.

¹⁶ La prolattina è un ormone prodotto dall'ipofisi, che, in condizioni di normalità, ha la funzione di stimolare la produzione di latte da parte della mammella, nel periodo che segue il parto.

Iperprolattinemia: aumento persistente dei livelli ematici di prolattina legato al blocco di recettori dopaminergici.