

Indicazioni per l'armonizzazione degli intervalli di riferimento nel monitoraggio terapeutico di farmaci antiepilettici

Ugo de Grazia¹, Pierantonio Menna², Marco Cantù³, Sara Baldelli⁴, Bianca Maria Goffredo⁵, Francesco Deleo⁶, Annachiara D'Urso¹ per conto del Gruppo di Studio SIBioC "TDM e Personalizzazione della Terapia"

¹ SSD Biochimica Specialistica Neurologica e Neurofarmacologica, Dipartimento di Diagnostica e Tecnologia, Fondazione I.R.C.C.S. Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano

² Facoltà Dipartimentale Scienze e Tecnologie per l'Uomo e l'Ambiente; UOS Farmacologia Clinica, Fondazione Policlinico Campus Bio-Medico di Roma

³ Istituto di Medicina di Laboratorio, Ente Ospedaliero Cantonale EOC, Bellinzona (CH)

⁴ Settore di Farmacologia, Laboratorio di Chimica Clinica, ASST Spedali Civili, Brescia

⁵ Laboratorio di Malattie Metaboliche I.R.C.C.S. Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

⁶ U.O. Epilettologia Clinica e Neurofisiologia Sperimentale, Fondazione I.R.C.C.S. Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano

ABSTRACT

Recommendations for the harmonization of reference intervals in the therapeutic monitoring of antiepileptic drugs

Therapeutic monitoring (TDM) of antiepileptic drugs (AEDs), or antiseizure medicines (ASMs) represents a pragmatic approach to the management of patients with epilepsy to assess either compliance, efficacy and toxicity. Dose adjustments based on drug concentrations detected in biological fluids allow physicians to optimize and personalize the pharmacologic regimens for the single patient. TDM of AEDs has become increasingly popular since the 1970s because it is difficult to identify the optimal drug dose for each patient and because AEDs concentrations correlate better than dose with clinical effects. This document aims to suggest reference intervals to harmonize the pharmacokinetic activity among Italian Laboratories in the monitoring of AEDs plasma exposures according to recent international literature and guidelines.

Parole chiave: *monitoraggio terapeutico, farmaci antiepilettici, intervalli di riferimento*

INTRODUZIONE

Il monitoraggio terapeutico (TDM) dei farmaci antiepilettici (AEDs) rappresenta un approccio razionale alla terapia dell'epilessia in grado di garantire una migliore gestione dei pazienti. Infatti, monitorando le concentrazioni di farmaco nei fluidi biologici, i clinici possono modificare la terapia con dosi di farmaco personalizzate per ogni singolo paziente. Negli ultimi anni ha cominciato a diffondersi l'uso del termine farmaci anticonvulsivanti (antiseizure medicines o ASMs) farmacologicamente e clinicamente più corretto ma per facilità di lettura abbiamo ritenuto di usare ancora una volta il termine più diffuso di farmaci antiepilettici (AEDs).

Il trattamento ideale con AEDs dovrebbe comportare

la completa libertà dalle crisi senza effetti avversi significativi; in molti pazienti, tuttavia, l'obiettivo è il miglior compromesso tra il controllo delle crisi e gli effetti collaterali. Il TDM degli AEDs si è diffuso a partire dagli anni '70 del secolo scorso per numerosi motivi. Certamente la difficoltà di identificare la dose ottimale di farmaco per ogni singolo paziente ha evidenziato la necessità di disporre di evidenze farmacocinetiche per impostare terapie *ad hoc*; infatti, i livelli sistemici degli AEDs correlano meglio della posologia con gli effetti clinici, sia terapeutici che avversi. Inoltre le crisi possono presentarsi con frequenze molto basse, anche meno che annuali, o irregolari, pertanto è assai utile avere a disposizione un parametro oggettivo per guidare la modifica degli schemi terapeutici. Da segnalare come

Corrispondenza a: Annachiara D'Urso, Fondazione I.R.C.C.S. Istituto Neurologico Carlo Besta, SSD Biochimica Specialistica Neurologica e Neurofarmacologica, Dipartimento di Diagnostica e Tecnologia, Via Giovanni Celoria 11, 20133 Milano, Email: annachiara.durso@istituto-besta.it

Ricevuto: 19.10.2022

Rivisto: 06.11.2022

Accettato: 09.12.2022

Published online: 17.01.2023

DOI: 10.19186/BC_2022.083

il TDM permetta anche di controllare la compliance alla terapia prescritta, in modo da distinguere, in caso di necessità, un insuccesso terapeutico dovuto all'inefficacia della terapia, dall'insuccesso dovuto ad assunzione irregolare della stessa. Ricorrere al TDM in attività di routine è anche utile per determinare una possibile origine iatrogena di un disturbo riferito dal paziente o per ottenere un controllo precoce di una eventuale tossicità farmaco-correlata.

Un altro aspetto importante da ricordare è che molti AEDs sono soggetti a una notevole variabilità farmacocinetica interindividuale e potrebbero quindi essere necessarie anche grandi differenze di posologia in pazienti diversi o nello stesso paziente in condizioni cliniche diverse.

Il monitoraggio dei farmaci antiepilettici

Affinché le determinazioni delle concentrazioni degli AEDs ottenute in laboratorio siano utilizzabili, devono essere definiti degli intervalli di riferimento specifici per ciascuna popolazione. Pertanto è necessario che siano rispettate alcune condizioni (1-5):

- La misurazione delle concentrazioni ematiche degli AEDs deve essere richiesta solo in presenza di un chiaro quesito clinico, o in caso di sospetta mancata aderenza del paziente alla terapia. L'aderenza terapeutica è fondamentale certamente nelle prime fasi della terapia, ma per farmaci come gli AEDs, per i quali è previsto un uso cronico lungo tutto l'arco della vita monitorare questi pazienti anche a lungo termine offre un chiaro vantaggio in termini di outcome clinico. Infatti i pazienti possono sperimentare crisi anche a distanza di anni dall'inizio della terapia probabilmente perché la compliance non è più ottimale. Monitorare questi pazienti durante tutta la loro vita terapeutica può offrire un aiuto agli epilettologi per una migliore gestione clinica.
- Le concentrazioni ematiche degli AEDs devono essere determinate allo stato stazionario (steady state), ad eccezione delle situazioni che richiedono un intervento immediato (ad esempio, sospetta tossicità o sovradosaggio). Il tempo di campionamento deve essere standardizzato, in particolare per i farmaci che hanno emivita breve (≤ 12 ore). La strategia migliore è quella di prelevare un campione immediatamente prima della dose successiva (trough).
- L'interpretazione dei risultati del TDM degli AEDs deve tenere conto dell'intervallo di tempo trascorso dall'assunzione dell'ultima dose e del profilo farmacocinetico del farmaco monitorato.
- L'applicazione del TDM richiede un'adeguata conoscenza delle specifiche proprietà farmacocinetiche e farmacodinamiche del farmaco da monitorare.
- Gli intervalli di riferimento delle concentrazioni degli AEDs hanno un valore esclusivamente probabilistico: molti pazienti possono richiedere concentrazioni inferiori o superiori a tali intervalli. Il paziente va informato dei limiti degli intervalli di riferimento sia da parte del laboratorista che dal clinico di riferimento.
- Nell'interpretare le concentrazioni ematiche degli

AEDs occorre tenere nel giusto conto tutte le variabili che possono alterare la proprietà farmacocinetiche e farmacodinamiche del farmaco alterando il rapporto tra concentrazione ed efficacia clinica tra cui: l'età avanzata, il tipo di epilessia, il legame con le proteine ematiche, la presenza di metaboliti farmacologicamente attivi, la possibilità di interazioni con i farmaci somministrati contemporaneamente, anche quelli non appartenenti alla famiglia degli AEDs.

- Il laboratorio che si occupa di TDM deve anche assicurare l'adeguatezza dei dati verificando la qualità delle determinazioni fornite. Questo obiettivo si raggiunge sia attraverso l'uso di controlli di qualità interni, usualmente forniti assieme ai kit reagenti, sia aderendo a specifici programmi di Valutazione Esterna di Qualità (VEQ) che permettano una valutazione del singolo Laboratorio anche su tempi lunghi.

Le decisioni cliniche non dovranno essere prese solo sulla base delle concentrazioni plasmatiche dei farmaci. È necessario associare al dato farmacocinetico considerazioni sulla storia del paziente, segni e sintomi clinici e qualsiasi altra informazione di laboratorio pertinente. Questo tipo di approccio verso il concetto di "concentrazione terapeutica individuale" è il primo necessario passo verso la medicina personalizzata (o di precisione) nel campo del trattamento delle epilessie.

Termini come "intervalli di riferimento", "intervalli terapeutici", "intervalli ottimali", "intervalli auspicabili", "intervalli efficaci", "intervalli target", "concentrazioni target" sono stati usati in modo variabile in letteratura, in modo intercambiabile o con significati diversi (1,2,5). Per evitare la confusione generatasi in passato, a causa della sovrapposizione di questi termini, nel presente documento vengono utilizzati due termini distinti per definire gli intervalli di concentrazione degli AEDs in relazione ai loro effetti clinici:

L'"intervallo di riferimento" può essere definito come un intervallo di concentrazioni di farmaci, con un limite inferiore al di sotto del quale è relativamente improbabile che si verifichi una risposta terapeutica e un limite superiore al di sopra del quale è relativamente probabile che si verifichi una tossicità (1,2,5). I medici curanti, nell'utilizzare gli intervalli di riferimento, devono essere consapevoli, che a causa della variabilità individuale, molti pazienti possono ottenere un beneficio terapeutico con concentrazioni di farmaco nel siero al di fuori di questi intervalli. In altre parole, l'intervallo di riferimento non è un "intervallo terapeutico" e quest'ultimo può essere definito, ai fini del presente lavoro, come l'intervallo di concentrazioni di farmaco che è associato alla migliore risposta ottenibile in una data persona, e quindi può essere determinato solo per quel particolare individuo, poiché l'intervallo differirà in individui diversi (1,2,5). Alcuni individui, tuttavia, otterranno un beneficio ottimale a concentrazioni al di fuori dell'intervallo di riferimento e alcuni avranno effetti tossici all'interno di questo intervallo (1,2,5).

Gli intervalli di riferimento possono essere ricavati per specifiche popolazioni (ad esempio la popolazione italiana) ma occorre seguire criteri molto rigorosi e

chiaramente definiti in letteratura (6-10). Il risultato di questo tipo di studio potrebbe mostrarci allora che l'intervallo terapeutico si troverà all'interno, o molto vicino, dell'intervallo di riferimento indicato dal laboratorio (1,2,5). Le concentrazioni all'interno dell'intervallo di riferimento non possono però essere descritte come "normali" perché la concentrazione "normale" di un farmaco in un organismo vivente è pari a zero. Parimenti le concentrazioni che rientrano nell'intervallo di riferimento non sono necessariamente "terapeutiche", "efficaci" o "ottimali" e pertanto si raccomanda di non utilizzare questi aggettivi quando si riportano i risultati. La terminologia corretta dovrebbe essere: "Il risultato si trova all'interno/al di sopra/al di sotto dell'intervallo di riferimento" (1,2,5).

Matrice del campione e tempo di campionamento

Generalmente le matrici di elezione per il TDM sono rappresentate da plasma o siero. Sebbene queste matrici possano sembrare interscambiabili ai fini del TDM, occorre selezionare quella per cui il metodo analitico in uso presso il proprio laboratorio è stato validato. La saliva potrebbe rappresentare una matrice alternativa ma solo per alcuni AEDs e con notevoli problematiche di standardizzazione. Nella maggior parte dei contesti clinici, la misurazione delle concentrazioni sieriche totali è sufficiente e, in effetti, la maggior parte dei metodi di routine per la misurazione degli AEDs nei sieri non discrimina tra la componente di farmaco libera, quella non legata e farmacologicamente attiva e quella legata alle proteine sieriche. Tuttavia, poiché solo il farmaco libero è in grado di equilibrarsi con la concentrazione nello spazio interstiziale del cervello dove si verifica l'effetto farmacologico, in alcuni contesti clinici in cui il legame con le proteine è alterato, il monitoraggio delle concentrazioni di farmaco libere permetterebbe una più efficace gestione del paziente. Infatti, se la frazione libera aumenta, la misurazione della concentrazione sierica totale sottostima la quantità di farmaco libero, e in queste circostanze gli effetti terapeutici e tossici saranno osservati a concentrazioni totali di farmaco più basse del normale (11-13).

Per sfruttare al massimo il TDM il campionamento deve essere effettuato allo stato stazionario, che si verifica a 4-5 emivite dall'inizio del trattamento o da una modifica della dose. Per gli AEDs con emivita lunga, come fenobarbitale, zonisamide, etosuccimide, perampanel, e cenobamato, la fluttuazione della concentrazione sierica del farmaco durante un intervallo di campionamento è trascurabile e i campioni possono essere raccolti in qualsiasi momento. Per la maggior parte dei AEDs, tuttavia, in particolare quelli con emivita breve o relativamente breve (ad esempio, carbamazepina, acido valproico, gabapentin, levetiracetam, pregabalin, tiagabina, lamotrigina e topiramato), è importante standardizzare il tempo di campionamento in relazione alla dose. Se il prelievo di sangue viene effettuato prima del raggiungimento dello stato stazionario dopo un aumento della dose, la concentrazione sierica allo

stato stazionario a quella dose, sarà sottostimata. Di conseguenza, se si procede a un ulteriore aumento della dose, si può verificare una tossicità per il paziente. Nel caso della carbamazepina, il campionamento prima del completamento dell'autoinduzione induce una sovrastima della concentrazione allo stato stazionario. Ciò può comportare una dose sotto-terapeutica e i pazienti possono continuare ad avere crisi epilettiche che si sarebbero potute evitare.

Il momento ideale quindi per il prelievo di sangue per tutti i AEDs è immediatamente prima della dose orale successiva (trough). Quando questo non fosse possibile, come ad esempio nel caso di pazienti ambulatoriali, è opportuno non ritardare l'assunzione della dose mattutina per non più di 2/3 ore nel caso di AEDs con emivita breve (<8 ore).

In alcuni casi, due campioni di sangue, ad esempio uno prelevato al momento del trough e un secondo prelevato al momento previsto del picco (o in concomitanza con la comparsa di sintomi suggestivi di tossicità transitoria legata alla concentrazione) potrebbero essere utili per ottimizzare lo schema di dosaggio. Questa procedura dovrebbe essere concordata preventivamente con i medici di riferimento in modo tale che il Laboratorio possa identificare adeguatamente il prelievo "a valle" (trough) e il prelievo di "picco" (C_{max}).

In caso di sovradosaggio, il campionamento dovrebbe essere effettuato non appena il paziente si presenta al pronto soccorso, ma potrebbero essere necessari campionamenti ripetuti, a seconda della tempistica dell'overdose.

SCOPO

Lo scopo di questo documento è agevolare l'armonizzazione nei Laboratori italiani nella valutazione e nella comparazione dei risultati del TDM dei farmaci antiepilettici con riferimento alla letteratura internazionale.

METODOLOGIA

Questo documento si basa su quattro rassegne dei seguenti autori: Patsalos et al. (3), Reimers et al. (4), Schulz et al. (14) e Hiemke et al. (15) (fonte: Pubmed). Lo studio di Schulz et al. (14) è una revisione sistematica con indicazioni anche sulle proprietà tossicologiche di numerosi farmaci. Lo studio di Hiemke C. et al. (15) è aggiornato periodicamente e fornisce indicazioni sul TDM sia di farmaci antiepilettici che di molti altri farmaci neurotropi. Gli intervalli di riferimento riportati in queste due revisioni sono stati adottati nel corso del tempo da molti Laboratori, così come dai maggiori produttori di kit e reagenti IVD. Il documento di Hiemke et al. (15) ha molti riferimenti interni alla revisione di Schulz (14) (mostrati in Tabella S1). Di orientamento mirato esclusivamente agli AEDs sono le rassegne successive (3,4).

Il lavoro di Patsalos et al. del 2018 (3), è pure aggiornato periodicamente. In ogni edizione vengono rivalutati gli intervalli proposti nelle edizioni precedenti e inoltre vengono aggiunti nuovi riferimenti per gli eventuali

AEDs di nuova introduzione nella pratica clinica.

Il lavoro di Reimers et al. del 2018 (4) è particolarmente interessante in quanto è basato sull'analisi dei dati reali di concentrazioni plasmatiche di AEDs dei pazienti iscritti nel registro nazionale norvegese e fornisce interessanti indicazioni per un approccio pratico alla definizione degli intervalli di riferimento degli AEDs, quindi molto vicina come metodica al lavoro che questo GdS si propone di condurre. Di particolare rilievo è l'osservazione che la concordanza degli intervalli di riferimento riportata nei lavori di Patsalos et al. (3) e Reimers et al. (4) è elevata, mentre lo è di meno con le prime due (14, 15).

Per comodità del lettore la bibliografia contenuta all'interno delle rassegne consultate (3,4,14,15) è riportata e commentata nella Tabella supplementare S1.

Non verranno discusse in questo studio le problematiche che possono derivare dall'uso di diverse metodiche analitiche per il TDM, in quanto questo argomento verrà affrontato nell'ambito del futuro programma di lavoro del GdS.

RISULTATI

Dopo revisione della letteratura segnalata (3,4,14,15) e di alcuni riferimenti contenuti nelle rassegne consultate (riportati nella Tabella S1), vengono proposte le seguenti indicazioni (divise per farmaci e gruppi di concordanza tra le varie fonti):

- Gruppo A: AEDs con intervalli di riferimento ad elevata concordanza tra i valori proposti in letteratura (Tabella 1)
- Gruppo B: AEDs con intervalli di riferimento a media concordanza tra i valori proposti in letteratura (Tabella 2)
- Gruppo C: AEDs con intervalli di riferimento a bassa concordanza (Tabella 3)
- Gruppo D: metaboliti attivi e frazioni libere (Tabella 4)
- Gruppo E: profarmaci (Tabella 4)
- Gruppo F: nuovi farmaci

Il grado di concordanza si basa sui valori degli intervalli di concentrazione riportati nelle referenze di riferimento: per ogni singolo farmaco è stata assegnata una concordanza "elevata" qualora i valori proposti coincidano al 90-100%, "media" se coincidono al 50-90%, e "bassa" inferiore al 50%.

Plasma o siero sono le matrici di scelta per la TDM. In questa revisione proponiamo, anche al fine di agevolare l'armonizzazione tra i Laboratori, l'uso del plasma per il TDM dei farmaci antiepilettici. Questa scelta è stata effettuata sulla base di alcune evidenze scientifiche riportate tra le indicazioni incluse nel documento SIBioC di Plebani et al. (16).

Nel presente documento non verranno affrontate tematiche relative alla scelta del tipo di anticoagulante da utilizzare nella raccolta del campione. Si consiglia in generale di seguire le indicazioni fornite dai produttori di kit/reagenti.

COMMENTO ALLE INDICAZIONI

Farmaci gruppo A, (Tabella 1)

Acido valproico, carbamazepina, clobazam, etosuccimide, felbamato, fenitoina, lamotrigina, perampanel, pregabalin, primidone, zonisamide.

Dal momento che per questi AEDs vi è una quasi assoluta corrispondenza tra i valori degli intervalli di riferimento pubblicati in letteratura, si confermano i valori riportati in tabella.

Si propone inoltre che il primidone e il suo metabolita attivo fenobarbitale vengano monitorati contemporaneamente a causa della elevata variabilità del rapporto delle concentrazioni tra i due farmaci e della eventuale tossicità del fenobarbitale (3).

Nonostante vi sia uniformità tra le fonti, l'intervallo di riferimento proposto per il perampanel è da ritenersi al momento preliminare, considerata la recente introduzione del farmaco nella pratica clinica.

Farmaci gruppo B, (Tabella 2)

Brivaracetam

AED di recente immissione sul mercato: non sono disponibili studi su grandi numeri di pazienti. I due studi più numerosi (3,4) concordano su di un intervallo putativo di 0,2 – 2 mg/L. Patsalos et al. (3) basano le loro conclusioni sui dati di Reimers et al. (4) in cui i pazienti erano trattati con una dose di 50 mg per due volte al giorno. Successivamente è stato ampliato l'intervallo di posologia anche a dosi superiori a 200 mg/die. Quindi l'intervallo individuato nel 2018 (0,2-2 mg/L) risulta essere più adeguato. Si ritiene pertanto di proporre tale intervallo di riferimento anche nei nostri Laboratori. Analogamente al perampanel anche per il brivaracetam occorre considerare la sua recente introduzione nella pratica clinica.

Fenobarbitale

Si ritiene di adottare l'intervallo di riferimento proposto ormai da numerosi anni in tutta la comunità del TDM (10-40 mg/L). Fa eccezione lo studio di Reimers et al (4), basato su una popolazione locale norvegese; in quel contesto, si era ritenuto che fissare il livello superiore a 30 mg/L fosse utile per identificare alcuni casi di abuso di farmaco.

Clonazepam

La stessa considerazione vale per questo intervallo di riferimento che viene proposto tra 0,02 e 0,07 mg/L.

Lacosamide

Sebbene gli intervalli di riferimento forniti per questo farmaco possano sembrare abbastanza discordanti occorre distinguere il dato fornito da Greenaway et al.

Tabella 1

Farmaci antiepilettici (AEDs) con intervalli di riferimento ad elevata concordanza tra i valori proposti in letteratura (Gruppo A):

Farmaci Gruppo A	Schulz et al. (14) (mg/L)	Hiemke et al. (15) (mg/L)	Patsalos et al. (3) (mg/L)	Reimers et al. (4) (mg/L)	Intervallo di riferimento proposto (mg/L)
Acido Valproico	43 - 101	50 - 100	50 - 100	43-101	50 - 100
Carbamazepina ^(a)	4 - 12	4 - 12	4 - 12	4 - 11	4 - 12
Clobazam ^(b)	0,03 - 0,3	0,03 - 0,3	0,03 - 0,3	0,03 - 0,3	0,03 - 0,3
Etosuccimide	30 - 100	40 - 100	40 - 100	39 - 99	40 - 100
Felbamato	30 - 60	30-80	30 - 60	30 - 60	30 - 80
Fenitoina	10 - 20	10 - 20	10 - 20	10 - 20	10 - 20
Lamotrigina	3 - 14	3 - 15	2,5 - 15	3 - 13	3 - 15
Perampanel	-	0,18 - 0,98	0,18 - 0,98	0,1 - 1 ^(c)	0,18 - 0,98
Pregabalin	2 - 6	2 - 5	2 - 8	2 - 6	2 - 5
Primidone	4 - 12 ^(d)	5 - 10 ^(d)	5 - 10 ^(d)	-	5 - 10
Zonisamide	10 - 40	10 - 40	10 - 40	10 - 38	10 - 40

^(a) l'epossido della carbamazepina verrà discusso nel gruppo D.^(b) i valori di concentrazione riportati sono relativi al solo clobazam. Il metabolita attivo N-desmetilclobazam è discusso in Tabella 4 e successivo paragrafo.^(c) data la recente introduzione del farmaco, questi autori propongono un intervallo più ampio degli altri, in attesa di ulteriori dati.^(d) È raccomandata la determinazione del primidone contemporaneamente a quella del fenobarbitale suo metabolita attivo.**Tabella 2**

Farmaci antiepilettici (AEDs) con intervalli di riferimento a media concordanza tra i valori proposti in letteratura (Gruppo B)

Farmaci Gruppo B	Schulz et al. (14) (mg/l)	Hiemke et al. (15) (mg/l)	Patsalos et al. (3) (mg/l)	Reimers et al. (4) (mg/l)	Intervallo di riferimento proposto (mg/l)
Brivaracetam	-	0,5 - 0,9 ^(a)	0,2 - 2	0,2 - 2	0,2 - 2
Clonazepam	0,02 - 0,08	0,02 - 0,07	0,02 - 0,07	0,013 - 0,038 ^(b)	0,02 - 0,07
Fenobarbital	10 - 30	10 - 40	10 - 40	12 - 30 ^(b)	10 - 40
Gabapentin	0,5 - 6	2 - 20	2 - 20	3 - 21	2 - 20
Lacosamide	1 - 10	1 - 10	10 - 20	3 - 10	1 - 10
Rufinamide	5 - 30	5 - 30 ^(c)	30 - 40 ^(d)	4 - 31	5 - 40
Stiripentolo	1 - 10	1 - 10	4 - 22 ^(e)	4 - 22	1 - 10
Tiagabina	0,01 - 0,1	0,02 - 0,2	0,02 - 0,2	-	0,02 - 0,2

^(a) questo intervallo è riferito alla dose di 50 mg per 2 volte al dì usata nei primi studi clinici.^(b) studio su popolazione locale; il limite superiore è inferiore agli altri riportati, per escludere abuso nel caso del clonazepam e/o sedazione nel caso del fenobarbitale.^(c) quando il farmaco sia usato per altre sindromi che non siano la Lennox-Gastaut.^(d) limitatamente a pazienti con sindrome Lennox-Gastaut.^(e) 8-12 mg/L per pazienti con sindrome di Dravet; 4-22 mg/L per trattare le assenze.

(17), riportato in Patsalos et al. (3) e gli altri autori. Il dato originale fornito da Greenaway et al. (17) era relativo a soli 10 pazienti testati a 0 e 3 ore dopo l'assunzione del farmaco, non quindi in una situazione ottimale per il TDM. Gli intervalli di riferimento forniti da Reimers et al. e da colleghi (4,15,18,19) fanno riferimento a studi più ampi in migliori condizioni di raccolta del campione, ovvero in sospensione dal farmaco. Si propone pertanto di mantenere l'intervallo di riferimento attualmente già diffuso ovvero da 1 a 10 mg/L.

Rufinamide

In questo caso, sono descritti in letteratura due intervalli diversi: da 5 a 30 mg/L (4,14,15) e da 30 a 40 mg/L (3); quest'ultimo caso è relativo ad una specifica condizione (pazienti con Sindrome Lennox-Gastaut). Come GdS proponiamo di estendere l'intervallo di riferimento della rufinamide da 5 a 40 mg/L in modo tale da comprendere tutte le condizioni cliniche associate all'utilizzo del farmaco. Il livello di allarme di laboratorio per questo farmaco riportato in letteratura è >40 mg/L (14,15).

Stiripentolo

Anche in questo caso, il confronto degli intervalli proposti presenta la stessa discriminante patologia-specifica in particolare riferito ai pazienti con sindrome di Dravet o con assenze. Si propone di mantenere l'intervallo di riferimento da 1 a 10 mg/L, in quanto il livello di allarme per l'insorgenza di eventuale tossicità riportato in letteratura è di 15 mg/L (14,15).

Farmaci gruppo C (Tabella 3)

Levetiracetam

L'International League Against Epilepsy (ILAE) ha proposto inizialmente, a partire dal 2002, un intervallo di riferimento pari a 12-46 mg/L (1, 20). In studi successivi i valori sono stati rielaborati proponendo un valore minimo inferiore (5 mg/L) (3 4,14,15,20,21).

In particolare, Couderc et al., nel 2022 (21) sono intervenuti sull'argomento ridefinendo l'intervallo da 10 a 40 mg/L.

Una interessante revisione sistematica sul TDM del levetiracetam è stata presentata nel 2018 da Jarvie et al. (22) che includeva 51 studi, la maggior parte dei quali di tipo osservazionale, più alcuni Casi Clinici. Sono presentati valori di riferimento per vari tipi di popolazione (anziani, bambini, malattie diverse) anche se poi la conclusione degli autori è che non è stato possibile rilevare un chiaro rapporto tra livelli del farmaco e la sua efficacia o tossicità e quindi che il TDM non fosse poi così necessario, se non in popolazioni selezionate. Sempre nel 2018 Sourbron et al. hanno presentato un lavoro in cui viene sottolineata l'importanza del TDM per questo farmaco in popolazioni selezionate; in particolare modo popolazioni neonatali, pediatriche, anziane e per le donne in gravidanza.

Uno studio, in corso, su 35318 determinazioni nella popolazione italiana ha fornito un intervallo di valori di concentrazione compreso tra 3 e 43 mg/L (de Grazia U., dati non pubblicati).

In base all'evidenza clinica, ad oggi disponibile e all'esame della letteratura si propone un intervallo di riferimento tra 5 e 40 mg/L.

Sultiam

Patsalos et al. (3) propongono due intervalli separati a seconda dell'età (da 2 a 10 mg/L per i bambini e da 1 a 3 mg/L per adulti, entrambi in politerapia). Date le indicazioni limitate all'uso di questo AED e alla sua scarsa diffusione, non sono presenti molti dati in letteratura. Si propone pertanto come intervallo di riferimento l'intervallo da 2 a 10 mg/L.

Topiramato

La ILAE ha proposto a partire dal 2008 un intervallo di riferimento pari a 5-20 mg/L (1,3). Studi successivi (4), condotti usando dosi inferiori a quelle somministrate precedentemente propongono l'intervallo 2-10 mg/L. Uno studio, in corso, su 13953 determinazioni nella popolazione italiana ha fornito un intervallo di valori di concentrazione compreso tra 0,9 e 16,0 mg/L (de Grazia U., dati non pubblicati). In base anche all'evidenza clinica si propone pertanto un intervallo di riferimento pari a 2-10 mg/L.

Tabella 3

Farmaci antiepilettici (AEDs) con intervalli di riferimento a bassa concordanza (Gruppo C):

Farmaci Gruppo C	Schulz et al.(14) (mg/L)	Hiemke et al. (15) (mg/L)	Patsalos et al. (3) (mg/L)	Reimers et al. (4) (mg/L)	Intervallo di riferimento proposto (mg/L)
Levetiracetam	10 - 40	10 - 40	12 - 46	5 - 41	5 - 40
Sultiam	0,5 - 12,5	2 - 8	(a)	2 - 10	2 - 10
Topiramato	2 - 10	2 - 10	5 - 20	2 - 10	2 - 10
Vigabatrin	-	2 - 10	0,8 - 36	-	vedi commento

(a) 2-10 mg/L per bambini; 1-3 mg/L per adulti. Entrambi in politerapia.

Vigabatrin

Per questo farmaco non esistono indicazioni al TDM, fatta eccezione per i pazienti con grave compromissione renale. Infatti vigabatrin è un inibitore irreversibile selettivo della GABA transaminasi, l'enzima responsabile della scissione del GABA (acido gamma-aminobutirrico). Vigabatrin aumenta la concentrazione di GABA, che è il principale neurotrasmettitore inibitore a livello cerebrale legandosi permanentemente e irreversibilmente al recettore. Pertanto non viene metabolizzato e quindi non è stato ancora possibile stabilire una associazione diretta tra la sua concentrazione ematica e l'efficacia clinica. Tuttavia questa misura viene offerta da tutte le ditte produttrici di kit CE-IVD ed alcuni laboratori italiani offrono questa determinazione. Come GdS proponiamo che venga accolta l'indicazione a non effettuare il TDM. Nei pochi casi in cui si renda necessario la misura di questo farmaco proponiamo l'intervallo suggerito da Hiemke et al. (15) pari a 2-10 mg/L.

Farmaci gruppi D (metaboliti attivi e frazioni libere,) e Gruppo E (profarmaci)*N-desmetilclobazam / clobazam*

N-desmetilclobazam è il metabolita attivo del clobazam. Il TDM è fortemente consigliato sia per la elevata variabilità individuale che per le interazioni con altri farmaci. Gli intervalli disponibili in letteratura corrispondono a quelli consigliati da ILAE (1). Si propone quindi di mantenere l'intervallo di riferimento di 0,3-3 mg/L.

Desmetilsuccimide / Metosuccimide

Desmetilsuccimide è il metabolita attivo della metosuccimide. Questo farmaco è usato raramente e sono pochi i laboratori nazionali che ne offrono la determinazione proponendo un intervallo di riferimento da 10 a 40 mg/L. Si propone pertanto di mantenere questi valori. Non ci sono chiare indicazioni al TDM del profarmaco metosuccimide.

Tabella 4

Metaboliti attivi e frazioni libere (Gruppo D):

FARMACI gruppo D	Schulz et al. (14) (mg/L)	Hiemke et al. (15) (mg/L)	Patsalos et al. (3) (mg/L)	Reimers et al. (4) (mg/L)	Intervallo/soglia di riferimento proposto (mg/L)
N-Desmetilclobazam	0,3 - 3	0,3 - 3	0,3 - 3	0,3 - 3	0,3 - 3
Desmetilsuccimide	10 - 30	10 - 40	-	-	10 - 40
Oxcarbapina (Profarmaco Attivo)	0,4 - 2	0 - 4	-	-	v. discussione
Mono-Irossi- Oxcarbapina	10 - 35	10 - 35	3 - 35	3 - 36	3 - 36
Eslicarbapina	10 - 35	10 - 35	3 - 35	3 - 26 ^(a)	10 - 35
Carbamazepina Epossido	0,2 - 2	0,28 - 3	Fino a 2,3	5-15% della concentrazione di carbamazepina totale	0,2 - 4
Carbamazepina frazione libera	20 - 30% della concentrazione di carbamazepina totale	-	-	20 - 30% della concentrazione di carbamazepina totale	<30% della concentrazione di carbamazepina totale
Fenitoina frazione libera	-	-	0,7 - 2	<10% della concentrazio- ne di fenitoina totale	<10% della concentrazione di fenitoina totale
Acido Valproico frazione libera	-	-	3,5 - 12	<10% della concentrazione di acido valproico totale	<20% della concentrazione di acido valproico totale

^(a) studio su popolazione locale.

10-monoidrossi-carbazepina / Oxcarbazepina

Il profarmaco oxcarbazepina ha una sua propria attività farmacologica ma viene rapidamente convertito in 10-monoidrossi-carbazepina. ILAE propone per quest'ultimo, un intervallo di riferimento da 3 a 36 mg/L (1). Uno studio, in corso, su 16462 determinazioni nella popolazione italiana ha fornito un intervallo di valori di concentrazione compreso tra 3,3 e 32,0 mg/L (de Grazia U., dati non pubblicati). Si propone pertanto di adottare l'intervallo di riferimento proposto dalla ILAE pari a 3-36 mg/L (1). Si propone inoltre di monitorare contemporaneamente l'oxcarbazepina per poter escludere fenomeni di tossicità, alterazioni del metabolismo e/o per monitorare la compliance del paziente.

L'intervallo di riferimento proposto per l'oxcarbazepina è pari a 0-4 mg/L.

Eslicarbazepina / Eslicarbazepina acetato

Eslicarbazepina è il metabolita attivo di eslicarbazepina acetato. Chimicamente corrisponde alla 10-monoidrossi-carbazepina, pertanto si propone di adottare il medesimo intervallo di riferimento (3, 4). Non ci sono chiare indicazioni al TDM della eslicarbazepina acetato.

Carbamazepina / Epossido della carbamazepina

La carbamazepina viene metabolizzata a 10,11-eossido, un metabolita attivo che contribuisce anche alla tossicità epatica. La concentrazione ematica di questo metabolita è altamente variabile, anche in dipendenza di eventuali co-mediezioni e quindi si ritiene che sia consigliabile effettuare il monitoraggio. I valori di intervallo di riferimento proposti in letteratura sono abbastanza discordanti, contrariamente a quello che si verifica per la carbamazepina (3,14,15). Dal momento che il livello di allarme riportato in letteratura è di 4 mg/L (14) si propone questo valore come limite superiore di accettabilità per una concentrazione massima di carbamazepina totale pari a 12 mg/L. Si propone inoltre, come indicato da Patsalos et al. (3) la determinazione contemporanea alla carbamazepina data la sua maggiore variabilità e tossicità.

Frazioni libere

La letteratura scientifica suggerisce che sia utile monitorare le frazioni libere di AEDs che abbiano un legame proteico superiore al 80% (2, 3). Appartengono a questo gruppo: carbamazepina, fenitoina, acido valproico e tra i farmaci più recenti stiripentolo e perampanel. Tra gli altri farmaci, con legame proteico inferiore, si suggerisce che in alcuni casi possa essere utile valutare la quota libera di lamotrigina (66%) e fenobarbitale (48%) (3). In realtà, nella pratica clinica corrente si ritiene utile il monitoraggio delle frazioni libere di carbamazepina, fenitoina e acido valproico (2,3). I valori di riferimento

sono mostrati in Tabella 4 e sono espressi come frazione percentuale della concentrazione del farmaco totale.

Si sottolinea in questa sede come sia necessario, in caso di richiesta di determinazione di frazioni o quote libere eseguire con la misura della concentrazione totale del AED richiesto. Si suggerisce altresì di accoppiare la misura delle quote libere a quello dell'albumina sierica, dal momento che questa è la proteina che lega più fortemente i vari AEDs. Le variazioni della sua concentrazione plasmatica possono avere forti effetti sul rapporto tra quota totale e frazione libera dei AEDs (13).

Per le tre quote libere si propone di adottare gli intervalli di riferimento internazionalmente riconosciuti e mostrati nella Tabella 4.

Gruppo F Nuovi farmaci

Per questi farmaci, Cenobamato e Cannabidiolo, non è stato possibile inserire una tabella dedicata in quanto i valori di riferimento non sono ancora disponibili.

Cenobamato

Secondo quanto riportato nel Drug Approval Package nel 2019 (24) e da Roberti et al. nel 2021 (25), la concentrazione massima di cenobamato (C_{max}) aumenta proporzionalmente alla dose in studi a dose singola e multipla ascendente. Allo stesso modo, l'aumento dell'esposizione plasmatica [area sotto la curva (AUC) concentrazione-tempo] è proporzionale alla dose dopo somministrazione multipla da 50 a 500 mg/die, mentre la proporzionalità della dose non è stata mantenuta nell'intero intervallo di dosi da 5 a 750 mg dello studio a dose singola. In effetti, dopo la somministrazione di una singola dose, i valori di AUC sono aumentati più che proporzionalmente, in particolare a dosi superiori a 300 mg (24, 25). Tuttavia, va considerato che la variabilità inter-individuale del cenobamato nell'uomo è stata fino al 25% per la C_{max} e fino al 35% per l'AUC dal tempo zero al tempo t (AUC_t), mentre la variabilità intra-individuale stimata è stata fino al 14% per la C_{max} e fino al 5% per l' AUC_t (24, 25).

Data l'esiguità degli studi con questa molecola non è ancora disponibile un intervallo di riferimento. I dati derivanti dagli studi clinici includono 8700 misurazioni ottenute da 960 soggetti diversi con una posologia variabile da 50 to 600 mg/die (750 mg per la dose singola) con un intervallo di concentrazioni plasmatiche che varia da 5 a 60 $\mu\text{g/mL}$ (24).

Cannabidiolo (formulazione orale)

Il Cannabidiolo (CBD), isolato dalla *Cannabis sativa* nel 1940, ha un effetto antiepilettico e non ha attività psicoattiva (26). La sua efficacia nel ridurre vari tipi di crisi è stata dimostrata in vari modelli animali e recenti studi randomizzati e controllati con una particolare formulazione cristallina purificata *versus* placebo hanno confermato la sua efficacia in pazienti con epilessia resistente ai farmaci (27-30). Anche per questo farmaco

non è disponibile un intervallo di riferimento. Inoltre questo farmaco può essere usato sotto altre forme d'uso e per un ampio ventaglio di patologie. Quindi saranno necessari studi specifici su pazienti con epilessia trattati con la sola formulazione orale di CBD. Al momento un primo studio italiano di Contin et al. del 2021 (31) ci fornisce alcuni dati ottenuti determinando la reale concentrazione plasmatica di pazienti in terapia con CBD. Sono stati analizzati 127 campioni di plasma da 43 pazienti, 27 con sindrome di Lennox-Gastaut e 16 con sindrome di Dravet. La concentrazione plasmatica trough mediana di CBD era di 91 ng/mL con un intervallo di 65-153 ng/mL (25-75%) (31). Queste concentrazioni plasmatiche di CBD risultano linearmente correlate alle dosi giornaliere. Inoltre, gli stessi autori riportano che i livelli plasmatici medi del farmaco aumentano fino a 190 ng/mL (intervallo da 95 a 322 ng/mL) 2,5 ore dopo la somministrazione (31).

Valori di allerta

I valori di allerta sono suddivisi in:

- allerta tossicologica: concentrazione minima alla quale è riportato un evento avverso;

- allerta coma: concentrazione minima alla quale è riportato un evento comatoso.

Crediamo possa essere di interesse riportare in una tabella (Tabella 5), i valori di allerta in uso più frequentemente. I dati sono tratti da Hiemke et al. (15) per i valori di allerta tossicologica e dal database TOXINZ per i valori di allerta per un evento comatoso.

TOXINZ è un database di informazioni sui veleni per medici e professionisti del settore clinico, sviluppato dal National Poisons Centre della Nuova Zelanda. Contiene una lista di più di 200000 sostanze tra prodotti chimici, farmaceutici, piante e animali pericolosi con informazioni cliniche e farmaco/tossicologiche sulla sostanza e sulla gestione dell'avvelenamento con referenze costantemente aggiornate (32).

CONCLUSIONI

Questo documento, prodotto per conto del GdS SIBioC TDM e Personalizzazione della Terapia non vuole e non può essere esaustivo. L'auspicio è che la proposta di armonizzazione degli intervalli di riferimento in farmaco-tossicologia, soprattutto nel campo degli antiepilettici e dei farmaci neurotropi, possa contribuire

Tabella 5

Valori di allerta e soglie per coma

Farmaco	Valori di allerta (15)	Soglie per coma riportate da: https://www.toxinz.com . ultimo accesso: agosto 2022
Acido valproico	120 mg/L	850 mg/L
Carbamazepina	20 mg/L	40 mg/L
Etosuccimide	120 mg/L	150 mg/L
Felbamato	100 mg/L	non presente nel database
Fenitoina	25 mg/L	50 mg/L
Lamotrigina	20 mg/L	non definito
Perampanel	1000 µg/L	non definito
Pregabalin	10 mg/L	66,5 mg/L
Primidone	25 mg/L	non definito
Zonisamide	40 mg/L	non presente nel database
Brivaracetam	1,8 mg/L	non definito (non si consiglia TDM)
Fenobarbital	50 mg/L	80 mg/L (80-150)
Gabapentin	25 mg/L	non definito
Lacosamide	20 mg/L	27,7 mg/L
Rufinamide	40 mg/L	non presente nel database
Stiripentolo	15 mg/L	non presente nel database
Tiagabina	300 µg/L	non presente nel database
Levetiracetam	50 mg/L	non definito (non si consiglia TDM)
Sultiam	12 mg/L	non presente nel database

ad un miglior trattamento dei pazienti.

Come in altri studi di questo tipo non è possibile tener conto di tutte le possibili interazioni farmacocinetiche e farmacodinamiche sia intra che inter-individuali.

L'approccio della "medicina personalizzata" può certamente aiutare a semplificare questo scenario: un approccio, cioè, che tenga conto delle interazioni dei farmaci assunti in politerapia oltre che delle condizioni cliniche individuali. Perseguendo questo scopo il concetto di intervallo di riferimento "di popolazione" diverrebbe obsoleto in quanto esso andrebbe applicato ad ogni specifica situazione clinica in base all'outcome, che è il vero marcatore di efficacia e mancanza di tossicità di una terapia farmacologica. In conclusione, vogliamo ribadire che il vero obiettivo del TDM è trattare il paziente e non la sua concentrazione sierica di farmaco.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno

BIBLIOGRAFIA

- Patsalos PN, Berry DJ, Bourgeois BFD, et al. Antiepileptic drugs - best practice guidelines for therapeutic drug monitoring: a position paper by the subcommission on therapeutic drug monitoring, ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* 2008;49:1239-76.
- Clarke W, Dasgupta A, eds. *Clinical Challenges in Therapeutic Drug Monitoring*, Elsevier, 2016.
- Patsalos PN, Spencer EP, Berry DJ. Therapeutic drug monitoring of antiepileptic drugs in epilepsy: a 2018 update. *Ther Drug Monit* 2018;40:526-48.
- Reimers A, Andnes Berg J, Larsen Burnset M, et al. Reference ranges for antiepileptic drugs revisited: a practical approach to establish national guidelines. *Drug Des Devel Ther* 2018;12:271-80.
- Johannessen Landmark C, Johannessen SI. Chapter 10 - Therapeutic monitoring of antiepileptic drugs. In: Georg Hempel ed. *Handbook of Analytical Separations*, Elsevier Science BV, 2020;7:225
- Cerioti F, Panteghini M, Guerra E, et al. Intervalli di riferimento standardizzati della fosfatasi alcalina sierica in soggetti pediatrici. *Biochim Clin* 2017;41:166-74
- Cerioti F, Hinzmann R, Panteghini M. Reference intervals: the way forward. *Ann Clin Biochem* 2009;46:8-17.
- Giavarina D, Dorizzi RM, Guerra G. Linee guida per la produzione di intervalli di riferimento. *Riv Med Lab* 2001;2:99-105
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). *Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory*; approved guideline, 3rd ed. CLSI document EP28-A3c. Wayne, PA, 2010.
- Henny J, Vassault A, Boursier G, et al. Recommendation for the review of biological reference intervals in medical laboratories. *Review Article. Clin Chem Lab Med* 2016;54:1893-900.
- Perucca E. Free level monitoring of antiepileptic drugs. *Clinical usefulness and case studies. Clin Pharmacokinet* 1984;9:71-8.
- Barre J, Didey F, Delion F, et al. Problems in therapeutic drug monitoring: free drug concentration monitoring. *Ther Drug Monit* 1988;10:133-43.
- Charlier B, Coglianese A, De Rosa F, et al. The effect of plasma protein binding on the therapeutic monitoring of antiseizure medications. *Pharmaceutics* 2021;13:1208.
- Schulz M, Iwersen-Bergmann S, Andresen H, et al. Therapeutic and toxic blood concentrations of nearly 1,000 drugs and other xenobiotics. *Crit Care* 2012;16:R136.
- Hiemke C, Bergemann N, Clement HW, et al. Consensus guidelines for therapeutic drug monitoring in neuropsychopharmacology: update 2017. *Pharmacopsychiatry* 2018;51:9-62.
- Plebani M, Banfi G, Bernardini S, et al. Serum or plasma? An old question awaiting for new answers. *Biochim Clin* 2019;43:178-86.
- Greenaway C, Ratnaraj N, Sander JW, et al. A high-performance liquid chromatography assay to monitor the new antiepileptic drug lacosamide in patients with epilepsy. *Ther Drug Monit* 2010;32:448-52.
- Svendsen T, Brodtkorb E, Baftiu A, et al. Therapeutic drug monitoring of lacosamide in Norway: focus on pharmacokinetic variability, efficacy and tolerability. *Neurochem Res* 2017;42:2077-83.
- Contin M, Albani F, Riva R, et al. Lacosamide therapeutic monitoring in patients with epilepsy: effect of concomitant antiepileptic drugs. *Ther Drug Monit* 2013;35:849-52.
- Leppik IE, Rarick JO, Walczak TS, et al. Effective levetiracetam doses and serum concentrations: age effects. *Epilepsia* 2002;43:240.
- Couderc S, Chouchane M, Saint-Marcoux F. What Is the Therapeutic Reference Range for Levetiracetam? *Grand Round/A Case Study. Ther Drug Monit* 2022;44:363-5.
- Jarvie D, Mahmoud SH. Therapeutic Drug Monitoring of Levetiracetam in Select Populations. *J Pharm Pharm Sci* 2018;21:149-76.
- Sourbron Jo, Chan HY, Wammes-van der Heijden EA, et al., Review on the relevance of therapeutic drug monitoring of levetiracetam 2018;62:131-5.
- Drug Approval Package: XCOPRI. https://www.accessdata.fda.gov/drugs_atfda_docs/nda/2019/212839Orig1s000_TOC.cfm (ultimo accesso; maggio 2022)
- Roberti R, De Caro C, Iannone LF, et al. Pharmacology of Cenobamate: Mechanism of Action, Pharmacokinetics, Drug-Drug Interactions and Tolerability. *CNS Drugs* 2021;35:609-18
- Mazurkiewicz-Beldzińska M, Zawadzka M. Use of cannabidiol in the treatment of epilepsy. *Neurol Neurochir Pol* 2022;56:14-20.
- Devinsky O, Cross JH, Laux L, et al. Trial of Cannabidiol for Drug-Resistant Seizures in the Dravet Syndrome *N Engl J Med* 2017;376:2011-20.
- Miller I, Scheffer IE, Gunning B, et al. Dose-ranging effect of adjunctive oral cannabidiol vs placebo on convulsive seizure frequency in Dravet Syndrome: a randomized clinical trial. *JAMA Neurol* 2020;77:613-21
- Patel AD, Mazurkiewicz-Beldzińska M, Chin RF, et al. Long-term safety and efficacy of add-on cannabidiol in patients with Lennox-Gastaut syndrome: Results of a long-term open-label extension trial. *Epilepsia* 2021;62:2228-39.

30. Iannone LF, Arena G, Battaglia D, et al. CBD LICE italy study group. results from an italian expanded access program on cannabidiol treatment in highly refractory dravet syndrome and lennox-gastaut syndrome. *Front Neurol* 2021;12:673135.
31. Contin M, Mohamed S, Santucci M, et al. CBD LICE Italy Study Group. Cannabidiol in Pharmacoresistant Epilepsy: Clinical Pharmacokinetic Data From an Expanded Access Program. *Front Pharmacol* 2021;12:637801.
32. Poisons information database for clinical professionals - <https://www.toxinz.com/> (ultimo accesso: agosto 2022)