

PONATINIB PLASMATICO IN LC/MS

Cod. LC99010





Questo prodotto adempie a tutte le esigenze della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVD).

La dichiarazione di conformità CE è disponibile su richiesta.



EUREKA S.R.L. LAB DIVISION

Via M. D'Antona 28

60033 Chiaravalle (AN) - Italy

Tel +39 071 7450790

eureka-support@sentinel.it

www.eurekakit.com

N° 003	Ponatinib plasmatico in LC/MS	10/2024
--------	-------------------------------	---------

INTRODUZIONE

Ponatinib (Iclusig®), è stato approvato per il trattamento dei pazienti affetti da Leucemia Mieloide Cronica (LMC) in fase cronica, accelerata o blastica, resistenti o intolleranti a dasatinib o nilotinib e per i quali il successivo trattamento con imatinib non sia clinicamente appropriato, oppure nei quali sia stata identificata la mutazione T315I.

Ponatinib è stato approvato alla dose di 45 mg/day, posologia alla quale si associano livelli plasmatici di farmaco allo stato stazionario ≥ 40 nM, concentrazione richiesta per prevenire la crescita di altri cloni BCR-ABL mutati (1).

Sfortunatamente, l'impiego clinico di ponatinib è limitato dalla possibile insorgenza di eventi vascolari occlusivi (trombosi e occlusioni arteriose e venose, tra cui infarto del miocardio fatale, ictus, stenosi dei grandi vasi arteriosi del cervello, grave vasculopatia periferica) (2). Il meccanismo o i meccanismi che sottendono tale tossicità cardiovascolare rimangono ad oggi ancora non del tutto chiari. Tuttavia, è stata considerata una stretta correlazione tra la dose di ponatinib ed il rischio di eventi cardiovascolari tanto da suggerire la riduzione del dosaggio di farmaco per mitigare il rischio di eventi cardiovascolari. In particolare, è stato dimostrato che per ogni 15 mg di ponatinib ridotti si associa il 33% di riduzione del rischio di trombosi arteriosa (3).

Da un punto di vista farmacocinetico, una relazione così evidente tra dose e rischio cardiovascolare sembra basarsi su un'esposizione plasmatica prolungata e non necessaria a livelli plasmatici di ponatinib ≥ 40 nM. Dosi più basse, come 30 o 15 mg/day, potrebbero comunque determinare una significativa esposizione plasmatica (4), mantenendo così l'attività antileucemica e riducendo il rischio di eventi cardiovascolari (5).

Per pazienti affetti da CML la scheda tecnica è stata modificata per permettere ai clinici di ridurre la dose di ponatinib da 45 a 15 mg/day una volta ottenuta la risposta citogenetica (2). La decisione è lasciata alla discrezione dei clinici e alla valutazione delle caratteristiche del paziente e dei singoli fattori di rischio.

Un case report pubblicato recentemente ha dimostrato l'efficacia di ponatinib a basse dosi in un paziente affetto da Leucemia Linfoblastica Acuta Philadelphia positiva. Gli autori hanno dimostrato che durante la riduzione delle dosi di ponatinib le concentrazioni plasmatiche di farmaco erano sempre ≥ 40 nM (6).

Il KIT diagnostico Eureka Lab Division permette di monitorare costantemente le concentrazioni plasmatiche di ponatinib durante la terapia di ogni singolo paziente; pertanto, rappresenta per i clinici un importante strumento di supporto, rapido ed economico, in grado di garantire loro la possibilità di evitare una esposizione plasmatica a ponatinib eccessiva che potrebbe essere causa di eventi trombotici.

References

1. O'hare O'Hare T, Shakespeare WC, Zhu X, Eide CA, Rivera VM, Wang F et al. AP24534, a pan-BCR-ABL inhibitor for chronic myeloid leukemia, potently inhibits the T315I mutant and overcomes mutation-based resistance. *Cancer Cell*. 2009; 16:401-12.
2. Moslehi JJ, Deininger M Tyrosine Kinase Inhibitor-Associated Cardiovascular Toxicity in Chronic Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 2015 Dec 10;33(35):4210-8.
3. Dorer DJ, Knickerbocker RK, Baccarani M, Cortes JE, Hochhaus A, Talpaz M et al. Impact of dose intensity of ponatinib on selected adverse events: Multivariate analyses from a pooled population of clinical trial patients. *Leuk. Res*. 2016; 48:84-91.
4. Cortes JE, Kantarjian H, Shah NP, Bixby D, Mauro MJ, Flinn I et al. Ponatinib in refractory Philadelphia chromosome-positive leukemias. *N Engl J Med*. 2012; 29:2075-88.
5. Breccia M, Pregno P, Spallarossa P, Arboscello E, Ciceri F, Giorgi M et al. Identification, prevention and management of cardiovascular risk in chronic myeloid leukaemia patients candidate to ponatinib: an expert opinion. *Ann Hematol*. 2017; 96:549-558.
6. Marchesi F, Salvatorelli E, Renzi D, Mengarelli A, Minotti G and Menna P. Efficacy and safety of low dose ponatinib in a case of Ph-positive acute lymphoblastic leukaemia. *British Journal of Haematology* 2019;187, e1–e32.

CARATTERISTICHE DEL KIT

RECUPERO DEL METODO:	87,5 %		
SENSIBILITÀ DEL METODO (LLOD):	0,17 ng/ml		
MINIMA CONCENTRAZIONE ANALIZZABILE (LLOQ):	0,5 ng/ml		
LINEARITÀ DEL METODO:	0,5 – 1.000 ng/ml		
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %) :</u>	Ci	Cs	
	5 ng/ml	50 ng/ml	
	6,16%	3,26%	
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %) :</u>	Ci	Cs	
	5 ng/ml	50 ng/ml	
	9,96%	4,98%	
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %):</u>	C LLOQ	Cm	CUP
	0,5 ng/ml	25 ng/ml	100 ng/ml
	4,85%	1,82%	2,78%
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %):</u>	C LLOQ	Cm	CUP
	0,5 ng/ml	25 ng/ml	100 ng/ml
	7,21%	7,09%	7,04%
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9981 ± 0,0014		

CONTENUTO DELLA CONFEZIONE (100 TEST)

Reagente A – Soluzione Deproteinizzante + Standard Interno	1 x 40 ml	Conservare a -20 °C
Calibratore liofilo urinario – Livello 0	1 x 1 ml	Codice LC99016 (Confezionato a parte - vedi scheda tecnica)
Calibratore liofilo urinario – Livello 1	1 x 1 ml	Codice LC99016 (Confezionato a parte - vedi scheda tecnica)
Calibratore liofilo urinario – Livello 2	1 x 1 ml	Codice LC99016 (Confezionato a parte - vedi scheda tecnica)
Calibratore liofilo urinario – Livello 3	1 x 1 ml	Codice LC99016 (Confezionato a parte - vedi scheda tecnica)
Calibratore liofilo urinario – Livello 4	1 x 1 ml	Codice LC99016 (Confezionato a parte - vedi scheda tecnica)
Calibratore liofilo urinario – Livello 5	1 x 1 ml	Codice LC99016 (Confezionato a parte - vedi scheda tecnica)
Calibratore liofilo urinario – Livello 6	1 x 1 ml	Codice LC99016 (Confezionato a parte - vedi scheda tecnica)
Reagente M1 – Fase Mobile M1	1 x 500 ml	
Reagente M2 – Fase Mobile M2	2 x 500 ml	

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a 2-8 °C, eccetto il Reagente A che va conservato a -20 °C. Per quanto riguarda la modalità di conservazione dello Standard di Calibrazione Liofilo, essa è descritta nella scheda tecnica dedicata.

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
LC99016	Calibratore liofilo in plasma per Ponatinib	7 x 2 x 1 ml
LC99019	Controllo liofilo in plasma per Ponatinib - Livelli 1, 2 e 3	3 x 5 x 1 ml
SK99010	Starter kit per Ponatinib plasmatico	1 Pz
Per sistemi UHPLC		
S959757902	Colonna analitica Zorbax RRHD C18 (50 x 2,1 mm, 1,8 µm)	1 Pz
Per sistemi HPLC		
Z959793902	Colonna analitica Zorbax Eclipse C18 (100 x 2,1 mm, 3,5 µm)	1 Pz

DOTAZIONE STRUMENTALE MINIMA RICHIESTA

LC-MS/MS Triplo Quadrupolo con pompa binaria
MRM mode, ESI positivo

DOTAZIONE OPZIONALE

Autocampionatore
Computer gestionale.

MODALITÀ DI RACCOLTA DEL *CAMPIONE EMATICO*

Prelevare 3 ml di sangue venoso in una provetta con EDTA come anticoagulante.
Centrifugare immediatamente a 4000 rpm per 5 minuti. Separare il plasma e stoccarlo
a -20°C. Stabile 1 mese.

PROCEDURA ANALITICA

FASE 1

Dispensare in una eppendorf:

- 100 µl di **Calibratore (C0-C6)/Controlli/Campioni**
- 400 µl di **Reagente A - Soluzione Deproteinizzante + Standard Interno**

Vortex per 10 sec.

Centrifugare a 14.000 rpm per 10 minuti

FASE 2

Trasferire il surnatante in una vial.

N.B.: il campione così preparato è stabile 1 giorno a 2-8 °C

INIEZIONE

- Iniettare 2-10 µl del surnatante in HPLC.

PONATINIB PLASMATICO in LC/MS - Avvertenze

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Installare la colonna analitica nuova Zorbax Eclipse C18 (100 x 2,1 mm, 3,5 µm) o Zorbax RRHD C18 (50 x 2,1 mm, 1,8 µm), termostata a 40 °C. Disconnettere il detector e far passare una soluzione di Fase Mobile M2 : Fase Mobile M1 (90 : 10 v/v) al flusso di 350 µl / minuto per 20 minuti. Condizionare ulteriormente fluendo una soluzione di Fase Mobile M2 : Fase Mobile M1 (90 : 10 v/v) per 15 minuti. **Non riciclare i liquidi di lavaggio.**

NON è possibile fare analisi a ricircolo di fase.

Se la T Amb del Laboratorio è > 20 °C si consiglia di conservare a 2-8 °C la Fase Mobile fra una seduta analitica e l'altra.

PULIZIA DELLA COLONNA

Lavare con una soluzione di Fase Mobile M2 : Fase Mobile M1 (90 : 10 v/v) al flusso di 350 µl / minuto per 20 minuti. La colonna va stoccata in questa soluzione.

LAVAGGIO DELL'AGO DI INIEZIONE

Lavare l'ago di iniezione con una soluzione di Metanolo : H₂O (85 : 15 v/v).

PARAMETRI SETTATI SU WATERS XEVO TQS MICRO

Capillary Voltage (kV)	1,0
Desolvation Gas (L/ora)	1000
Desolvation Temperature (°C)	550
Source Temperature(°C)	150

Frammentazioni (ottimizzate su TRIPLO QUADRUPOLO WATERS XEVO TQS MICRO)

MOLECOLA	PARENT ION	DAUGHTER ION	COLLISION ENERGY
PONATINIB-1	533.4	232.1	46
PONATINIB-1	533.4	260.2	28
PONATINIB-D8	541.5	260.2	36

SETTAGGIO DEL GRADIENTE

Tempo (min)	% M1 (POMPA A)	% M2 (POMPA B)	FLUSSO (µl/min)
0	90	10	350
0.5	70	30	350
1.0	35	65	350
1.5	10	90	350
5.0	10	90	350
5.1	90	10	350
10.0	90	10	350

PONATINIB PLASMATICO IN LC/MS

(Cromatogrammi di riferimento)

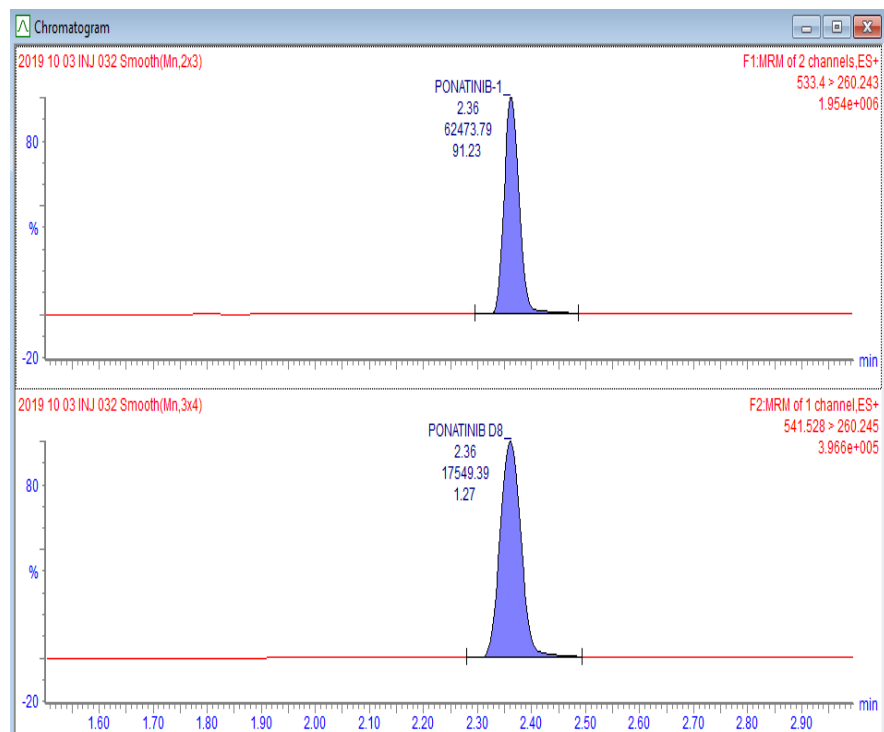


Fig. 1 :	Calibratore plasmatico		
	R.T. 2.36	Ponatinib	100 ng/ml
	R.T. 2.36	Ponatinib-D8	

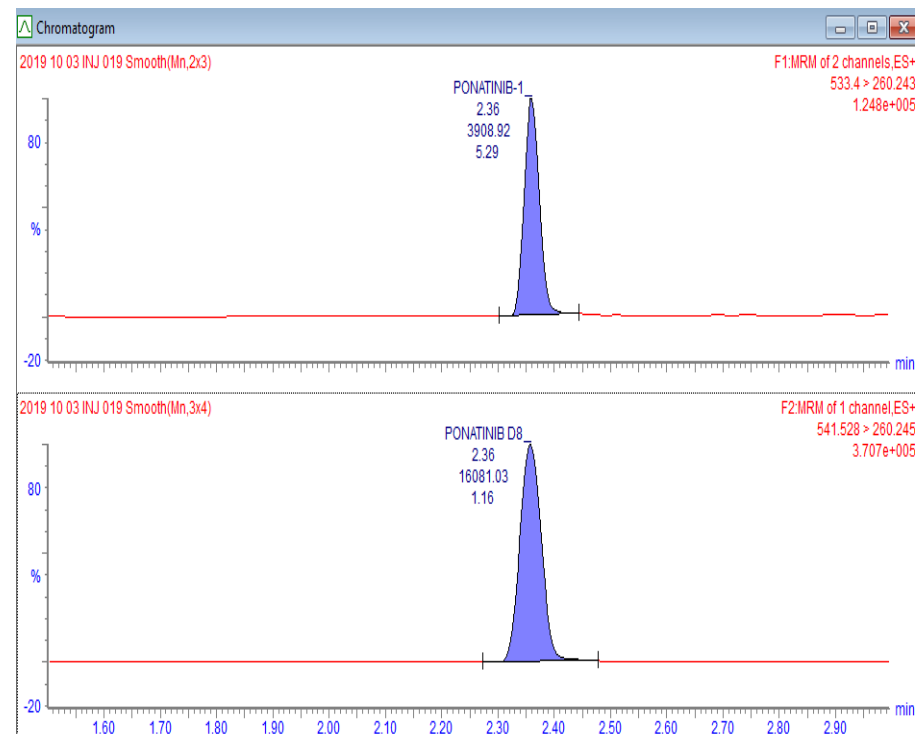


Fig. 2 :	Calibratore plasmatico		
	R.T. 2.36	Ponatinib	10 ng/ml
	R.T. 2.36	Ponatinib-D8	



eureka kit



EUREKA S.R.L. LAB DIVISION
Via M. D'Antona 28
60033 Chiaravalle (AN) - Italy
Tel +39 071 7450790
eureka-support@sentinel.it
www.eurekakit.com