



Empfehlung zur Messung der Plasmaspiegel von Emicizumab sowie zur Bestimmung der FVIII-Aktivität und des Nachweises von FVIII-Hemmkörpern unter Emicizumab

Struktur und Biochemie von Emicizumab

Hemlibra® (Emicizumab [Chugai / Roche Pharma AG]) ist ein humanisierter, monoklonaler, bispezifischer IgG4-Antikörper, welcher die Faktoren (F) IX(a) und X(a) bindet und somit die Kofaktor-Funktion des FVIIIa innerhalb des Tenase-Komplexes imitiert [1]. Hierbei ist eine Phospholipid-abhängige, korrekte Ausrichtung von FIXa bzw. FX Bedingung für die Emicizumab-vermittelte Aktivierung des FX. Im Gegensatz zu FVIIIa unterliegt Emicizumab keinen Aktivierungs- bzw. Inaktivierungsmechanismen und bindet mit nur moderater Affinität und nicht-diskriminatorisch an die humanen (Pro)enzym-Varianten von FIX(a) bzw. FX(a) [1-3]. Diese Eigenschaften bedingen eine im Vergleich zu FVIIIa differierende funktionelle Kofaktor-Aktivität von Emicizumab, welche die nachfolgend beschriebenen Interferenzen mit aPTT-basierten Testsystemen zur Folge haben.

Pharmakokinetik und klinische Wirksamkeit von Emicizumab

Die pharmakokinetischen Eigenschaften wurden mittels nicht-kompartimenteller Analyse gesunder Teilnehmer und mittels einer populationspharmakokinetischen Analyse eines Datenstammes von 389 Patienten mit Hämophilie A ermittelt. Emicizumab zeigte nach der ersten Dosis bei Patienten mit Hämophilie A eine dosisproportionale Pharmakokinetik über einen Dosisbereich von 0,3 mg/kg bis 6 mg/kg. Das Alter hat keinen Einfluss auf die Pharmakokinetik bei Kindern und Jugendlichen oder bei älteren Patienten (< 65 Jahre). Die Wirksamkeit von Emicizumab bei der Routineprophylaxe wurde in 4 klinischen Studien bei Patienten mit Hämophilie A mit und ohne Hemmkörper gegen Faktor VIII untersucht (HAVEN 1-4). Zusammenfassend ist eine deutliche Reduktion der Blutungsereignisse bei Jugendlichen und Erwachsenen mit/ohne Hemmkörpernachweis gegeben [4-8].

Interferenz von Emicizumab mit etablierten Testsystemen

Wie einleitend beschrieben, bedarf Emicizumab im Gegensatz zu FVIII keiner Aktivierung und unterliegt auch keiner Regulation. Insbesondere die erstgenannte Charakteristik führt dazu, dass FVIII-abhängige, koagulometrische Testverfahren, welche für den quantitativen Nachweis der Aktivität von plasmatischen Gerinnungsfaktoren konfiguriert wurden, in der Anwesenheit von Emicizumab verkürzte Gerinnungszeiten außerhalb des dynamischen Bereichs dieser Systeme aufweisen. Somit findet sich bzgl. plasmabasierter Testsysteme ein signifikanter, artifizieller Einfluss von Emicizumab auf die aPTT sowie alle aPTT-basierten Verfahren wie z. B. Einstufen-Tests zur Einzelfaktorenbestimmungen. Im Gegensatz hierzu bewegt sich Emicizumab in therapeutischen Konzentrationen durchaus im dynamischen Bereich chromogener FVIII-Messverfahren, welche auf humanen Faktoren IXa bzw. X basieren. Hierbei ist jedoch zwingend zu beachten, dass etwaig erhobene „FVIII-Aktivitäten“ keinesfalls auf vermeintliche FVIII-äquivalente Wirkungen von Emicizumab zu übertragen sind, sondern lediglich aus entsprechender Kalibration (fälschlicherweise) abgeleitet werden. Ein anderes Bild ergibt sich unter der Verwendung von auf bovinen Faktoren basierenden chromogenen FVIII-Testsystemen, welche nicht in der Lage sind, Emicizumab zu detektieren, da dieses lediglich an humane Faktoren zu binden vermag [9,10].



Bestimmung der Plasmaspiegel von Emicizumab

Um eine Bestimmung der Emicizumab-Plasmaspiegel mittels etablierter koagulometrischer Messsysteme zu ermöglichen, wurde ein modifizierter FVIII-Einstufen-Test entwickelt. Im Vergleich zur Bestimmung der FVIII-Aktivität erfolgt hierbei eine höhere Vorverdünnung der Plasmaprobe, um der unmittelbaren Aktivität von Emicizumab Rechnung zu tragen. Unter Verwendung entsprechender Kalibratoren ist es somit möglich, die Konzentration bzw. Aktivität von Emicizumab in einem Bereich von 10 bis 100 µg/ml zu bestimmen, was den therapeutischen Erwartungsbereich von ca. 40 bis 70 µg/ml adäquat abdeckt [4,5]. Die zur Durchführung benötigten Kalibratoren und Kontrollen werden von der Firma r² Diagnostics hergestellt und können über deren Distributoren (etwa Haemochrom) bezogen werden. Es ist zu beachten, dass trotz der höheren Vorverdünnung der Probe zusätzlich vorhandener FVIII das Messergebnis konzentrationsabhängig verfälschen kann. Sollte eine Bestimmung des Plasmaspiegels von Emicizumab in Anwesenheit von FVIII notwendig sein, könnte somit eine vorherige Hitzeinaktivierung der Plasmaprobe in Betracht gezogen werden [9,10]. Unter Verwendung der vorstehend beschriebenen Emicizumab-Kalibratoren und Kontrollen erscheint eine quantitative Bestimmung von Emicizumab ebenfalls mittels auf humanen Faktoren basierenden chromogenen FVIII-Testverfahren möglich [11]. Hierbei sollte jedoch der verfälschende Einfluss von FVIII in der Probe besonders berücksichtigt werden.

Messung der FVIII-Aktivität in Anwesenheit von Emicizumab

Wie vorstehend beschrieben, interferiert Emicizumab nicht mit chromogenen FVIII-Messverfahren, wenn sie auf bovinen Faktoren basieren. Somit kann die Aktivität von zusätzlich appliziertem oder endogenem FVIII störungsfrei mittels solcher Testsysteme ermittelt werden, auch wenn der Patient Emicizumab erhalten hat [9,10].

Nachweis von FVIII-Hemmkörpern in Anwesenheit von Emicizumab

Aufgrund der artifiziellen Verkürzung der Gerinnungszeiten von für die Bestimmung der FVIII-Aktivität ausgelegten, aPTT-basierten Einstufen-Tests können diese nicht im Rahmen der Durchführung von Bethesda-Assays zum Nachweis von FVIII-Hemmkörpern in Plasmaproben von Patienten unter Therapie mit (hitzeresistentem!) Emicizumab eingesetzt werden. Auch in diesem Fall muss zur Bestimmung der FVIII-Restaktivitäten ein auf bovinen Faktoren basierendes, chromogenes FVIII-Testverfahren eingesetzt werden [9,10].

Literatur

- 1) Sampei et al. PLoS One. 2013;8: e57479.
- 2) Kitazawa et al. Nat Med. 2012; 18: 1570-4.
- 3) Lenting et al. Blood. 2017; 130:2463-2468.
- 4) Oldenburg et al. N Engl J Med. 2017; 377: 809-818.
- 5) Mahlangu et al. N Engl J Med. 2018; 379: 811-822.
- 6) Pipe et al. Lancet Haematol. 2019; 6: e295-e305.
- 7) Young et al. Blood. 2019; 134: 2127-2138.
- 8) Fachinformation Hemlibra® April 2019
- 9) Adamkewicz et al. Thromb Haemost. 2019; 119: 1084-1093.
- 10) Müller et al. Thromb Haemost. 2019; 119: 1384-1393.
- 11) Amiral und Seghatchian. Transfus Apher Sci. 2018; 57: 363-369.



Gesellschaft für Thrombose- und Hämostasieforschung
Ständige Kommission Labor (STAEKOLA)

Empfehlungen zu Emicizumab (Hemlibra®)

Zusammenfassende Übersicht

	FVIII- Einstufentest	Modifizierter FVIII- Einstufentest	Humaner chromogener FVIII-Assay	Boviner chromogener FVIII-Assay
Sensitivität für Emicizumab	überempfindlich	sensitiv	sensitiv	nicht sensitiv
Sensitivität für FVIII	sensitiv	schwach sensitiv	sensitiv	sensitiv
Konzentration Emicizumab	X	✓	(✓)	X
FVIII-Aktivität unabhängig von Emicizumab	X	X	X	✓
(Nijmegen)-Bethesda- Assay	X	X	X	✓