



Empfehlungen zur Bestimmung der FVIII:C-Aktivität in Plasmen von Patienten unter Behandlung mit halbwertverlängerten bzw. alternativen FVIII-Produkten

Mit Adynovi, Elocta, Esperoct sowie Jivi stehen insgesamt vier FVIII-Konzentrate mit Definition einer verlängerten Halbwertszeit (extended half-life [EHL]) zur Verfügung. Im Vergleich zu konventionellen plasmatischen bzw. rekombinanten Faktorenkonzentraten weisen diese EHL-FVIII-Produkte eine ca. 1,5-fach verlängerte Halbwertszeit auf, die der Halbwertszeit des VWF entspricht. Die zur Erreichung der verlängerten Halbwertszeiten eingebrachten Modifikationen (Fusion mit Fc-Fragment- oder Albumin-Fusion bzw. Pegylierung) zeigen insbesondere in aPTT-basierten Einstufen-Tests unterschiedliche Aktivitätscharakteristika, welche zu einer abweichenden Bewertung der Aktivität dieser Faktoren im Vergleich zu dem zur Kalibration eingesetzten plasmatischen FVIII führen können. Ein ähnliches Bild zeigt sich mit Afstyla, einem einkettigen FVIII-Molekül, das aufgrund seiner erhöhten Stabilität als auch einer effektiveren Bindung an den vWF zwar eine ca. 1,2-fach verlängerte Halbwertszeit aufweist, jedoch nicht zum Kreise der EHL-FVIII-Produkte gezählt wird. Auch mit Obizur, einem rekombinanten, porcinen FVIII, welcher im Rahmen der Behandlung der Hemmkörper-Hämophilie zum Einsatz kommt, wurden entsprechende Beobachtungen gemacht.

Eine Gemeinsamkeit der in der EU zugelassenen FVIII-Produkte ist, dass deren Aktivität („potency labelling“) entsprechend der Vorgaben des Europäischen Arzneibuches (Ph.Eur.) mittels eines chromogenen Aktivitätstest ausgewiesen wird. Hierdurch ergibt sich der Umstand, dass die Aktivität konventioneller als auch modifizierter bzw. alternativer FVIII-Produkte durch chromogene Testverfahren auch in Post-Infusionsproben in der Regel korrekt ermittelt werden kann.

Somit soll mit den hier vorliegenden, im September 2020 aktualisierten Empfehlungen zur Bestimmung der FVIII:C-Aktivitäten der vorgenannten EHL- bzw. alternativen FVIII-Produkte in erster Linie darauf eingegangen werden, welche aPTT-Reagenzien im Rahmen von gegen plasmatischen FVIII kalibrierten Einstufen-Tests eingesetzt werden können. Hierzu finden sich nachfolgend Kurzdarstellungen, welche, neben einer einleitenden Beschreibung der biochemischen bzw. pharmakokinetischen Charakteristika, die zum Zeitpunkt der Veröffentlichung vorliegenden Informationen zu den Eigenschaften des jeweiligen FVIII-Produkts in verschiedenen FVIII:C Testsystemen zusammenfassen. Einen Abschluss findet jede dieser Darstellungen mit einer Auflistung der anwendbaren bzw. nicht zu verwendenden aPTT-Reagenzien, soweit dies auf Basis der vorliegenden Daten möglich ist.

Zusätzlich werden diese individuellen Empfehlungen von einer tabellarischen Übersicht begleitet, welche eine Gesamtbetrachtung der doch recht unübersichtlichen Gemengelage hinsichtlich des Monitorings der Therapie der Hämophilie mit modifizierten bzw. alternativen FVIII-Produkten ermöglichen soll.

Hinweis

Die in dieser Empfehlung besprochenen Medikamente und Reagenzien werden aufgrund einer besseren Übersichtlichkeit ohne deren entsprechende Erweiterungen für registrierte (R) bzw. unregistrierte (TM) Warenmarken aufgeführt.



Empfehlung zur Bestimmung der FVIII:C-Aktivität von Adynovi

Struktur und Biochemie

Adynovi (Rurioctocog alfa pegol, PEG-rFVIII, BAX855 [vormals Baxter, Baxalta, Shire und nun Takeda]) ist ein pegylierter, rekombinanter humaner Blutgerinnungsfaktor VIII auf Basis von Advate (Octocog alfa). Das zur Verlängerung der Halbwertszeit verwendete, verzweigte PEG findet sich hierbei zu ca. 60% innerhalb der B-Domäne des rFVIII gebunden (1,2).

Pharmakokinetik und klinische Wirksamkeit

In den entsprechenden Zulassungsstudien zeigte sich bei einer eingesetzten Konzentration von 60 IU PEG-rFVIII/kg Körpergewicht (KG) eine 1,4-fach verlängerte Halbwertszeit bei ähnlicher inkrementeller Recovery im Vergleich zu Advate. Die Zeit bis zum Abfall der gemessenen Adynovi-Aktivitäten auf 0,01 IU/ml (1% FVIII:C) konnte von etwa 72 auf 96 Stunden verlängert werden (2). Bei der Behandlung von Kindern (<12 Jahre) wurden vergleichbare Werte ermittelt (3).

Eigenschaften von Adynovi in FVIII Testsystemen

Im Rahmen einer Feldstudie unter Teilnahme von insgesamt 35 Laboren basierend auf in unterschiedlichen Konzentrationen mit PEG-rFVIII versetzten FVIII-Mangelplasmen ergab sich ein ähnliches Bild wie bei einem parallel getesteten rFVIII-Präparat (Advate) - Zielkonzentration 0,80 IU/ml; Wiederfindung (%) (Inter-Labor %CV): 101,0 (14,7) bzw. 114,0 (10,9); 0,20 IU/ml: 112,9 (17,8) und 129,8 (13,0); 0,05 IU/ml: 124,3 (17,5) und 138,3 (16,1) bei Verwendung von 1-Stufen Tests (4).

Bei Verwendung von chromogenen Assays (11 Laboratorien) zeigte sich bei den höheren Konzentrationen eine Überschätzung der FVIII Aktivität bei PEG-rFVIII als auch Advate - Zielkonzentration 0,80 IU/ml; Wiederfindung (%) (Inter-Labor %CV): 124,0 (10,1) bzw. 129,0 (9,0); 0,20 IU/ml: 123,7 (15,9) und 127,4 (13,9); 0,05 IU/ml: 95,4 (33,7) und 92,4 (32,5) (4).

Generell zeigten sich zur Zielkonzentration proportional verhaltene Wiederfindungsraten, jedoch bei allen 3 Zielaktivitäten insbesondere unter Verwendung von Ellagsäure bzw. Polyphenol-basierten aPTT-Reagenzien höhere Aktivitätswerte bei Adynovi sowie auch beim verwendeten rFVIII-Referenzprodukt Advate. Bei Verwendung von Silika oder Kaolin basierten aPTT Reagenzien zeigten sich niedrigere, dem jeweiligen Zielwert entsprechendere Aktivitätswerte (4). Insgesamt erschien jedoch eine gute Vergleichbarkeit der Messergebnisse zwischen Adynovi und dem konventionellen FVIII-Produkt Advate unter Verwendung verschiedenster Messsysteme gegeben zu sein (4).

Im Gegensatz zu den vorstehend beschriebenen Ergebnissen zeigte sich in einer multizentrischen Feldstudie eine deutliche (konzentrationsabhängige) Überbewertung von Adynovi, sowohl unter Anwendung chromogener, als auch aPTT-basierter Einstufen-Assays. Interessanterweise zeigte sich dieser Effekt auch unter Verwendung produktspezifischer Kalibratoren (5). Von den Autoren wird angemerkt, dass, im Gegensatz zu der in Referenz #4 beschriebenen Studie, nicht auf kongenitales FVIII-Mangelplasma zur Herstellung der Proben zurückgegriffen wurde. Auch kam eine im Vergleich zu dieser Studie geringere Bandbreite an Reagenzien zum Einsatz (5).

>



Beschriebene Testsysteme zur Bestimmung der Aktivität von Adynovi

Somit finden sich in der aktuell verfügbaren Literatur uneinheitliche Aussagen bzgl. der Zuverlässigkeit einzelner Testsysteme zur Bestimmung der Aktivität von Adynovi. Es werden nachfolgend die Testsysteme aufgeführt, welche in der in Referenz #4 beschriebenen Feldstudie verwendet wurden und, wie in dieser Studie beschrieben, eine vergleichbare Performance hinsichtlich der Bestimmung von Advate und Adynovi zeigten. Aktuell können anhand dieser Stelle allerdings keine expliziten Empfehlungen hinsichtlich der Verwendung dieser Reagenzien zur Bestimmung von Adynovi ausgesprochen werden. Wie auch in der kürzlich veröffentlichten „United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation“ (UKHCDO)-guideline "Laboratory measurement of factor replacement therapies in the treatment of congenital haemophilia" umgesetzt, soll hierfür die Verfügbarkeit weiterer Daten Voraussetzung sein (6). Aktuell wird die individuelle Überprüfung vorhandener Testsysteme empfohlen.

aPTT-Reagenzien:

Aktivator: Ellagsäure / Polyphenol

Actin FS (Siemens)
Actin FSL (Siemens)
Cephascreen (Stago)

Aktivator: Silica

aPTT-SP (IL Werfen)
SynthASil (IL Werfen)
aPTT-SS (IL Werfen)
STA-PTT Automate (Stago)
TriniCLOT aPTT S (nunmehr Stago)

Aktivator: Kaolin

CK Prest (Stago)

Chromogene Testverfahren:

Factor VIII Chromogenic Assay (Siemens)
Coamatic Factor VIII (Chromogenix / IL Werfen)
Electrachrome FVIII (IL Werfen)

Verwendete Literatur

- 1) Turecek et al. Hamostaseologie 2012; 32 Suppl 1: S29-38.
- 2) Konkle et al. Blood 2015; 126 :1078-1085.
- 3) Mullins et al. Haemophilia. 2017; 23: 238-246.
- 4) Turecek et al. Haemophilia 2016; 22: 957-965.
- 5) Bulla et al. Haemophilia. 2017; 23: e335-e339
- 6) Gray et al. Haemophilia. 2020; 26: 6-16.



Empfehlung zur Bestimmung der FVIII:C-Aktivität von Afstyla

Struktur und Biochemie

Afstyla (rVIII-Single Chain, Lonoctocog alfa [CSL Behring GmbH]) ist ein rekombinanter, einkettiger, humaner Blutgerinnungsfaktor VIII. Im Vergleich zum Faktor VIII-Wildtyp wurde ein Großteil der B-Domäne und 4 Aminosäuren der benachbarten sauren a3-Domäne (Aminosäuren 765-1652) entfernt. Die damit neu entstandene Verknüpfung zwischen leichter und schwerer Kette des Faktor VIII führt zu einer neuen N-Glykosylierungsstelle. Das Präparat weist eine höhere Affinität zum von Willebrand Faktor im Vergleich zum Volllängen-rekombinanten FVIII auf. Durch diese Stabilisierung des Faktor VIII wird dessen vorzeitiger Abbau beeinflusst (1,7)

Pharmakokinetik und klinische Wirksamkeit

Die pharmakokinetischen Eigenschaften wurden nach der Gabe einer Einzeldosis von 50 IE/kg an 81 vorbehandelten erwachsenen Patienten mit schwerer Hämophilie A ermittelt. Aufgrund der Abweichungen in allen aPTT basierten Einstufen-Gerinnungssystemen erfolgte die Ermittlung der Parameter der Pharmakokinetik mittels chromogener Assays.

Zur Kontrolle der klinischen Wirksamkeit und Sicherheit (Studie 1001) wurden 175 Patienten eingeschlossen, 146 erhielten eine Prophylaxebehandlung mit drei- (54%) oder zweimaliger (32%) wöchentlicher Gabe (mediane Dosis 35 und 30 IE/kg/Injektion). Die mediane annualisierte spontane Blutungsrate (ABR) war 1.14. In einer weiteren Untersuchung zu pädiatrischen Patienten (unter 12 Jahre, Studie 3002) wurden 84 vorbehandelte Patienten untersucht (53% 2x/Woche, 31% 3x/Woche). Die Blutungsereignisse (1001: 848; 3002: 347) konnten mit zwei oder weniger Injektionen beherrscht werden (2,3,7).

Eigenschaften von Afstyla® in FVIII:C Testsystemen

Die pharmakokinetischen Daten zu Afstyla wurden mittels chromogener Messung ermittelt. Die einstufigen Gerinnungsassays zeigen gegenüber dem chromogenen Assay ca. 45% niedrigere Faktor VIII-Aktivitätsspiegel. Dieses ist ein kontant auftretendes Resultat und wurde anhand vielfacher Untersuchungen für alle gängigen aPTT-basierten Einstufen-Gerinnungsteste nachgewiesen. Es führte zur Anwendung eines Umrechnungsfaktors „2“ zur Faktor VIII-Aktivitätsbestimmung bei der Anwendung von Afstyla.

Im Rahmen einer internationalen Feldstudie wurden verschiedene aPTT-basierte Einstufen-Gerinnungsteste und chromogene Testsysteme mit Afstyla-gespikten Plasmen in 4 unterschiedlichen Konzentrationen untersucht. Insgesamt nahmen 23 Laboratorien daran teil. Die Resultate der chromogenen Ergebnisse zeigten eine sichere Übereinstimmung, hinsichtlich aller in der Routine eingesetzten Einstufen-Gerinnungstestes zeigte sich unabhängig vom eingesetzten Aktivator das Bild der ca. 45 %igen erniedrigten Faktor VIII-Spiegel. In einer Vergleichsstudie von verschiedenen rekombinanten Faktor VIII-Produkten zu Afstyla ergab sich eine gute Übereinstimmung der Faktor VIII-Bestimmung hinsichtlich Coamatic Faktor VIII [IL Werfen], Biophen FVIII:C [Hyphen BioMed], VIII Chromogenic Assay [Siemens], Technochrome FVIII:C [Technoclone]. Auch die Resultate zum Einstufentest (Dade Actin, Dade Actin FS, Dade Actin FSL, Pathrombin SL [Siemens], TriniCLOT aPTT HS, TriniCLOT aPTT S, TriniCLOT Autom. PTT, STA Cephascreen, STA-PTT, C.K. Prest [Stago], Cephent APTT [Hyphen Biomed], Daptin TC [Technoclone], Hemosil APTT SP, SynthAFax, Synthasil [IL Werfen]) waren hinsichtlich der Faktor VIII-Bestimmung für alle Produkte ohne modifizierte Halbwertzeit vergleichbar, Ausnahme: für alle Reagenzien die ca. 45%ige Unterbewertung von Afstyla (4 - 6).

>



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

Empfehlungen zur Bestimmung der FVIII:C-Aktivität bei Behandlung mit halbezeitverlängerten bzw. alternativen FVIII-Produkten

Es wurde allerdings aufgezeigt, dass die Interlabor-Variabilität der Messergebnisse bei niedrigen Zielkonzentrationen (0,04 IU/ml) im Vergleich zu höheren Konzentrationen erhöht war (4). In einer kleineren Studie mit gespikten Proben wurde im Nachgang entsprechend aufgezeigt, dass es, insbesondere bei niedrigen Konzentrationen, abhängig vom verwendeten aPTT-Reagenz, zu einer Überschätzung von $\geq 30\%$ der vorliegenden Afstyla-Aktivitäten unter Verwendung des vorstehend beschriebenen Umrechnungsfaktors kommen kann. In dieser Versuchsserie waren insbesondere die aPTT-Reagenzien SynthAFax (IL Werfen) und Actin FS (Siemens) entsprechend auffällig (8).

Die vorstehend zusammengefassten Daten wurden auch in der kürzlich veröffentlichten „United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation“ (UKHCDO) guideline aufgenommen und diskutiert (9). Hierbei wird (nochmals) verdeutlicht, dass die Anwendung des vorgeschlagenen Umrechnungsfaktors unter Verwendung aPTT-basierter Testsysteme aufgrund der oben beschriebenen Problematik von der UKHCDO nicht empfohlen wird (9,10).

Empfohlene Testsysteme zur Bestimmung der Aktivität von Afstyla

Chromogene Testverfahren sind die erste Wahl für eine zuverlässige Bestimmung der Aktivität von Afstyla. Auch aPTT-basierte Einstufentests sind zur Bestimmung prinzipiell anwendbar, allerdings muss in diesen Fällen das erhaltene Ergebnis mit dem Wert „2“ multipliziert, also entsprechend korrigiert werden. Eine mögliche Überbewertung, insbesondere bei Vorliegen niedriger Afstyla-Plasmakonzentrationen muss hierbei berücksichtigt werden. Insbesondere wird an dieser Stelle eine entsprechende Überprüfung des verwendeten Einstufen-Testsystems bei Verwendung der aPTT-Reagenzien SynthAFax (IL Werfen) und Actin FS (Siemens) empfohlen.

Literatur

- 1) Schmidbauer et al. Thromb Res. 2015; 136: 388-95.
- 2) Klamroth et al. Haemophilia. 2016; 22: 730-8.
- 3) Mahlangu et al. Blood. 2016; 128: 630-7.
- 4) Ledger K St et al. J Thromb Haemost. 2018; 16: 555-564.
- 5) Buyue Y et al. PLoS One. 2014; 9: e113600.
- 6) Horn C et al. Haemophilia 2016; 22 (Suppl. 4): 20.
- 7) Fachinformation Afstyla® Februar 2018
- 8) Bowyer et al. Haemophilia. 2017; 23: e469-e470.
- 9) Gray et al. Haemophilia. 2020; 26: 6-16.
- 10) Collins et al. Haemophilia. 2016; 22: 487-498.

Empfehlung zur Bestimmung der FVIII-Aktivität von Elocta

Struktur und Biochemie

Elocta (Efmoroctocog alfa, rFVIII_hFc [Biogen/Sobi]) war das erste kommerziell verfügbare rekombinante Fusionsprotein bestehend aus humanem Faktor VIII (rFVIII) ohne B-Domäne und dem Fc-Fragment von humanem Immunglobulin G1 (IgG1). Hierbei findet sich das FC-Fragment ohne Linkersequenz an das FVIII-Molekül gebunden (1-3):

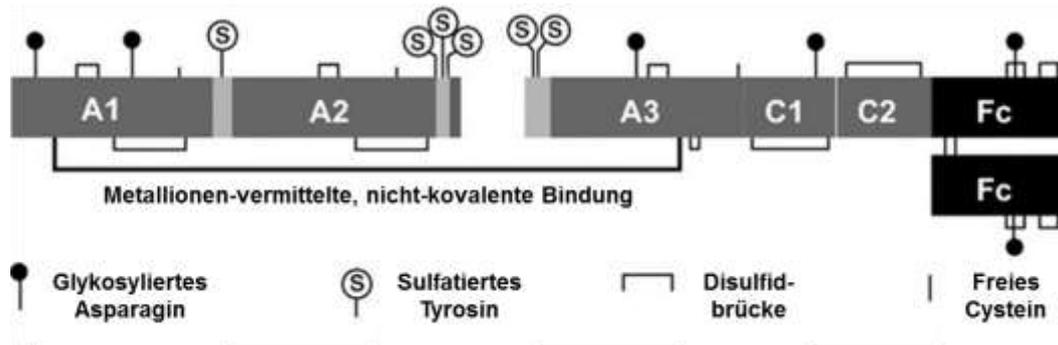


Abb. 1. Struktur von Elocta (rFVIII_hFc). Aus Ref. #3, modifiziert.

Pharmakokinetik und klinische Wirksamkeit

Im Rahmen zweier Phase 3-Studien zeigte sich bei einer eingesetzten Konzentration von 50 IU rFVIII_hFc/kg Körpergewicht (KG) bei Erwachsenen und Jugendlichen (≥ 15 Jahre) eine etwa 1,6-fach verlängerte Halbwertszeit bei ähnlicher inkrementeller Recovery im Vergleich zu einem Standard rFVIII-Produkt entspricht. Die Zeit bis zum Abfall der gemessenen Elocta-Aktivitäten auf 0,03 bzw. 0,01 IU/ml (3 bzw. 1% FVIII:C) lag bei durchschnittlich 4,9 bzw. 3,7 Tagen, im Vergleich zu einem Standard rFVIII-Präparat (3,3 bzw. 2,5 Tage). Bei der Behandlung von Kindern (<12 Jahre) wurden ähnlich relativ verlängerte Halbwertszeiten als auch inkrementelle Recovery Raten beobachtet (4). Im Rahmen von 22 größeren operativen Eingriffen wurden bei mit Elocta behandelten Patienten keine klinisch signifikanten Blutungsereignisse beobachtet. Hierbei kamen am Tag des Eingriffs 50,8 bis 126,6 IU/kg KG zum Einsatz (5).

Eigenschaften von Elocta® in FVIII Testsystemen

Im Rahmen einer Feldstudie unter Teilnahme von insgesamt 30 Laboren basierend auf in unterschiedlichen Konzentrationen mit rFVIII_hFc versetzten FVIII-Mangelp拉斯men ergab sich ein ähnliches Bild wie bei einem parallel eingesetzten rFVIII-Präparat (Advate) - Zielkonzentration 0,87 IU/ml (rFVIII_hFc) bzw. 0.80 IU/ml (Advate); Wiederfindung (%) (Inter-Labor %CV): 94,6 (16) bzw. 96,7 (10,9); 0,22 IU/ml bzw. 0.20 IU/ml: 106,0 (17) und 110,2 (19); 0,054 IU/ml bzw. 0,050 IU/ml: 115,7 (31) und 118,1 (34) bei Verwendung von 1-Stufen Tests (Ref. #3).

Bei Verwendung von chromogenen Assays zeigte sich eine Überschätzung der FVIII Aktivität insbesondere bei rFVIII_hFc - Zielkonzentration 0,87 IU/ml (rFVIII_hFc) bzw. 0.80 IU/ml (Advate); Wiederfindung (%) (Inter-Labor %CV): 119,0 (19) bzw. 108,1 (18); 0,22 IU/ml bzw. 0.20 IU/ml: 133,4 (23) und 112,4 (26); 0,054 IU/ml bzw. 0,050 IU/ml: 120,2 (31) und 101,8 (38) (Ref. #3).

>



Auch im Rahmen einer weiteren Studie (NEQAS BC), basierend auf gespikten- als auch Postinfusionsproben, wurde eine im Mittel 22-23%ige Überschätzung von Elocta (rFVIIIIFc) unter Verwendung von chromogenen Testsystemen beobachtet, wobei die Messergebnisse innerhalb der Testsystemgruppe allerdings gut korrelierten (1-Stufen Tests vs. chromogene Verfahren) (6).

Empfohlene Testsysteme zur Bestimmung der Aktivität von Elocta

Obwohl um 20 bis 30% höhere FVIII-Aktivitäten bei der Verwendung von chromogenen Assays im Vergleich zu 1-Stufen Tests gemessen werden, wird dieser Unterschied aus klinischer Sicht nur als bedingt relevant erachtet (6). Aus diesem Grund erscheint mit dem Wissen über die vorstehend genannte Überbewertung auch die Verwendung chromogener Testverfahren möglich, wobei diese allerdings entsprechend verifiziert werden sollten.

Während die Anwendung aPTT-basierter Einstufen-Tests im Allgemeinen als unkritisch erscheint, wurden in einer Übersichtsarbeit die aPTT-Reagenzien zusammengefasst, die im Rahmen entsprechender Evaluierungsstudien zur Anwendung kamen (7). Aus diesem Grund werden diese nachfolgend als zur Verwendung empfohlen aufgeführt. In der kürzlich veröffentlichten „United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation“ (UKHCDO)-guideline wurde die Anwendbarkeit ebenfalls bestätigt (8).

aPTT-Reagenzien:

Aktivator: Ellagsäure / Polyphenol

- ✓ Actin FS (Siemens)
- ✓ Actin FSL (Siemens)
- ✓ Cephascreen (Stago)

Aktivator: Silica

- ✓ Pathrombtin SL (Siemens)
- ✓ STA-PTT Automate (Stago)
- ✓ SynthASil (IL Werfen)

Aktivator: Kaolin

- ✓ CK Prest (Stago)

Chromogene Testverfahren

- ✓¹ BIOPHEN FVIII:C chromogener Test (Hyphen)
- ✓¹ COAMATIC Faktor VIII (Chromogenix/IL Werfen)
- ✓¹ Faktor VIII Chromogenic Assay (Siemens)

Legende:

✓ kann verwendet werden

¹ mglw. Überbewertung: 20 - 30%, Verifizierung empfohlen.

Verwendete Literatur

- 1) Mahlangu J. Expert Rev Hematol. 2018. doi: 10.1080/17474086.2018.1549478.
- 2) Peters et al. J Thromb Haemost. 2013; 11: 132-41.
- 3) Sommer et al. Haemophilia. 2014; 20: 294-300.
- 4) Frampton JE. Drugs. 2016; 76: 1281-1291.
- 5) Mahlangu et al. Thromb Haemost. 2016; 116: 1-8.
- 6) Kitchen et al. Int J Lab Hematol. 2018. doi: 10.1111/ijlh.12940.
- 7) Kitchen et al. Semin Thromb Hemost. 2017; 43: 331-337.
- 8) Gray et al. Haemophilia. 2020; 26: 6-16.



Empfehlung zur Bestimmung der FVIII:C-Aktivität von Jivi

Struktur und Biochemie

Jivi (Damoctocog alfa pegol [Bayer Vital GmbH]) ist ein spezifisch PEGylierter rekombinanter humaner Blutgerinnungsfaktor VIII mit deletierter B-Domäne. Er ist durch einen 60 kDa großen, verzweigten Polyethylenglykol (PEG)-Anteil gekennzeichnet, welcher sich in zwei 30 kDa große Anteile aufteilt. Die Molekülmasse des Gesamtproteins beträgt ca. 234 kDa. Die spezifische PEGylierung vermindert die Clearance von Faktor VIII, was zu einer verlängerten Halbwertszeit des Faktor VIII führt. Die normalen Funktionen des Faktor VIII bleiben erhalten (1,6).

Pharmakokinetik und klinische Wirksamkeit

Die pharmakokinetischen Daten, welche in einer Phase-I-Crossover-Studie und in der Phase II/III-Studie untersucht wurden, deuten darauf hin, dass durch den Einsatz von Jivi eine verminderte Clearance auftritt, welche zu einer 1,4fachen längeren terminalen Halbwertszeit führt. Zwischen den Dosen von 25 und 60 IE/kg wurden dosisproportionale Anstiege beobachtet, welche auf eine Dosislinearität hinweisen.

In den klinischen Studien wurden 232 vorbehandelte Patienten mit schwerer Hämophilie A behandelt. Dabei zeigte sich in der Phase II/III mit drei Behandlungsschemata (2x pro Woche 30-40 IE/kg, alle 5 Tage 45-60 IE/kg, alle 7 Tage 60 IE/kg) eine mediane annualisierte Gesamtblutungsrate von 1,17 für spontane Blutungen (vs. Bedarfsbehandlung 33,0). Die aufgetretenen Blutungen konnten zu 83% mit 1 Injektion behandelt werden (mediane Dosis 37,3 IE/kg). Die Phase III Studie zum Einsatz von Kinder und Jugendlichen (unter 12 Jahre) wurde 61 abgeschlossenen Patienten ausgewertet (83,6%). Dabei betrug die mediane annualisierte Blutungsrate 2,87. Auch hier konnte bei 84,4% mittels einer Injektion die Blutung beherrscht werden. Bei 11 Patienten unter 6 Jahren wurde aufgrund einer Immunantwort gegen PEG in Verbindung mit einem Verlust der Wirksamkeit und/oder Überempfindlichkeit die Substitution beendet (1-3, 6).

Eigenschaften von Jivi in FVIII:C Testsystemen

Die pharmakokinetischen Daten zu Jivi wurden mittels chromogener Messung ermittelt. Im Rahmen einer internationalen Feldstudie wurden verschiedene aPTT-basierte Einstufen-Gerinnungsteste und chromogene Testsysteme mit gespikten Plasmen in drei unterschiedlichen Konzentrationen untersucht. Insgesamt nahmen 52 Laboratorien daran teil. Die Resultate der chromogenen Ergebnisse zeigten eine sichere Übereinstimmung (FVIII chromogenic [Siemens], Hemosil ELECTRACHROME [IL Werfen], Coamatic Factor VIII [Chromogenix / IL Werfen], Biophen FVIII:C [HYPHEN Bio Med]). Ebenfalls konnte in den meisten Einstufen-Testergebnissen eine gute Aktivitätswertdarstellung erfolgen. Dieses war für die Ellagsäure- bzw. Silicat-basierten Reagenzien: SynthAFax [IL Werfen], Actin FSL [Siemens], Actin [Siemens], Cephascreen [Stago] der Fall. Beim Einsatz von SynthASil [IL Werfen] sowie Pathromtin SL [Siemens] kam es zu einer Tendenz zur Überschätzung im unteren Messbereich, während bei Anwendung von STA-CK Prest [Stago] eine Tendenz zur Überschätzung im unteren und auch mittleren Messbereich beobachtet wurde. Unter dem Ellagsäure-basierten Reagenzien wurde für Actin FS eine Überbewertung in allen Messbereichen festgestellt, wobei die Ergebnisse allerdings nicht einheitlich waren. Aus diesem Grund wird die individuelle Überprüfung dieser Reagenzien vor dem Einsatz zur Messung der Jivi-Aktivität empfohlen. Zwei Silicat-basierte Test zeigten eine ausgeprägte Unterbewertung: APTT-SP [IL Werfen] und STA-PTT A [Stago]. Die beiden letztgenannten Reagenzien sollten deshalb nicht für die Bewertung des Faktor VIII:C beim Einsatz von Jivi verwendet werden (4,5).

>



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

Empfehlungen zur Bestimmung der FVIII:C-Aktivität bei Behandlung mit halbzweitverlängerten bzw. alternativen FVIII-Produkten

Die vorstehend beschriebenen Eigenschaften der verschiedenen aPTT-basierten und chromogenen Testsysteme konnten in einer neueren Studie nur teilweise bestätigt werden (7). So zeigten sich bei mit Jivi gespikte Plasmaproben auch unter Verwendung von SynthASil [IL Werfen] sowie Pathromtin SL [Siemens] akzeptable Ergebnisse. Ein uneinheitliches Bild zeigte sich bei den evaluierten chromogenen Testverfahren. So wurden bei Anwendung des Trinichrom-Assays (Stago) die mit Jivi gespikte Plasmaproben in allen getesteten Konzentrationsbereichen um ca. 40% unterbewertet. Eine konzentrationsabhängige Unterbewertung (40% im niedrigen Konzentrationsbereich) zeigte sich mit dem Faktor VIII Chromogenic Assay von Siemens. Die ebenfalls überprüften chromogenen Tests von Hyphen/Biophen und Chromogenix/IL Werfen zeigten hingegen durchgehend akzeptable Ergebnisse (7).

Empfohlene Testsysteme zur Bestimmung der Aktivität von Jivi

Ausgewählte chromogene- und Einstufen-Testverfahren eignen sich für eine zuverlässige Bestimmung der Aktivität von Jivi. Die vorstehend zusammengefassten Daten fließen dementsprechend in die nachfolgend aufgeführten Empfehlungen ein.

aPTT-Reagenzien:

Aktivator: Ellagsäure / Polyphenol

- ✓ Actin (Siemens)
- Actin FS (Siemens)
- ✓ Actin FSL (Siemens)
- ✓ SynthAFax (IL Werfen)
- ✓ Cephascreen (Stago)

Aktivator: Silica

- ✗ APTT SP (IL Werfen)
- SynthASil (IL Werfen)
- Pathromtin SL (Siemens)
- ✗ STA PPT A (Stago)

Aktivator: Kaolin

- CK Prest (Stago)

Chromogene Testverfahren

- ✓ BIOPHEN FVIII:C chromogener Test (Hyphen)
- ✓ COAMATIC Faktor VIII (Chromogenix/IL Werfen)
- ✗ Faktor VIII Chromogenic Assay (Siemens)
- ✗ TriniCHROM FVIII:C (Stago)

Legende:

○ Tendenz zur (konzentrationsabhängigen) Überbewertung bzw. widersprüchliche Angaben, Evaluation empfohlen

✓ kann verwendet werden

✗ von der Verwendung wird abgeraten

Literatur

- 1) Coyle et al. J Thromb Haemost. 2014; 12: 488-96.
- 2) Shah et al. Haemophilia. 2018; 24: 733-740.
- 3) Reding et al. J Thromb Haemost. 2017; 15: 411-419.
- 4) Gu et al. Haemophilia. 2014; 20: 593-600.
- 5) Church et al. Haemophilia. 2018; 24: 823-832.
- 6) Fachinformation Jivi November 2018
- 7) Meijer et al. Blood. 2019; 134 (Supplement_1): 1124.



Empfehlungen zur Bestimmung der FVIII:C-Aktivität von Esperoct

Struktur und Biochemie

Esperoct (turoctocog alpha pegol, NN 7170, NN-7088, N8-GP [Novo Nordisk]) ist ein pegylierter, rekombinanter humaner Faktor VIII. N8-GP basiert auf einer Modifikation von NovoEight (turoctocog alpha) durch o-glycosidische PEGylierung (40 kDa). Diese erfolgt spezifisch in der auf 21 Aminosäuren verkürzten B-Domäne (10 N-terminal, 11 C-terminal) und wird bei Thrombin-vermittelter Aktivierung aus dem Molekül entfernt (1). Durch die PEGylierung soll eine verlängerte Halbwertszeit des Präparates erreicht werden. Die spezifische Aktivität beträgt etwa 10.000 IU/mg (2).

Esperoct wird in einer Ovarial-Zelllinie des chinesischen Hamsters (CHO-Zellen) mittels rekombinanter DNA-Technologie hergestellt. Bei der Herstellung werden weder humanes Serum noch tierische Proteine eingesetzt.

Pharmakokinetik und klinische Wirksamkeit

In (jungen) Erwachsenen (ab 12 Jahre) ist die Dosis-Wirkungs-Beziehung von N8-GP linear mit einem Anstieg von 2,5% pro verabreichter Einheit und Körpergewicht (KG) (0,025 U/mL / U/kg KG (3)). Die beobachtete mittlere Halbwertszeit beträgt 19,0 Stunden (11,6 - 27,3 Stunden), dies entspricht einer mittleren Halbwertszeitsverlängerung um den Faktor 1,6 im Vergleich zum bisherigen Präparat. In einer weiteren Studie ergab sich eine Halbwertszeit von 18,3 Stunden mit einer annualisierten Blutungsrate von 1,33 (4). 40 % der Patienten hatten keine Blutung, auftretende Blutungen konnten innerhalb von 1-2 Einzeldosen gestoppt werden.

Bei Kindern (< 12 Jahre, N=68) wurde eine Verlängerung der Halbwertszeit um den Faktor 1,85 beobachtet, bei einer annualisierten Blutungsrate von 1,95 (5). Insgesamt wurden 70 Blutungen beobachtet, keine wurde als schwer klassifiziert. 43% der Patienten zeigten keinerlei Blutungen.

Eigenschaften von N8-GP in FVIII:C Testsystemen

Für Esperoct zeigt sich die für PEGylierte Gerinnungsfaktoren typische Diskrepanz zwischen chromogenen Zweistufentests im Vergleich zu Einstufen-Tests. Auch innerhalb der Einstufen-Tests zeigt sich eine große Variabilität in der Wiederfindung.

Generell ist die Verwendung eines chromogenen Zweistufentests zur Bestimmung von N8-GP-Spiegeln geeignet (2, 4). Bei der Wiederfindung zeigte sich vor allem eine hohe Übereinstimmung mit dem nicht-pegylierten NovoEight. Eine zumeist akzeptable Überbewertung (< 30%) des Faktor VIII-Spiegels wurde bei Verwendung eines Plasma-basierten Kalibrators beobachtet (2,4). Die Verwendung des „8th WHO International Standards for Blood Coagulation Factor VIII:C, Concentrate“ als Kalibrator, welcher zum Potency-labelling von N8-GP verwendet wird, zeigte die erwartete Wiederfindung besser (2).

Im Rahmen einer bizenrischen Studie konnte das Bild der moderaten Überbewertung von Esperoct durch chromogene Testverfahren bestätigt werden (6). Einstufentests zeigten in dieser Studie normale oder (leicht) verminderte Wiederfindung. Actin, Actin FS, Pathromtin SL (Siemens) sowie DG Synth (Grifols), zeigten hierbei zufriedenstellende, SynthASiL und SynthAFax (IL Werfen) uneinheitliche Ergebnisse Actin FSL (Siemens), aber insbesondere APTT SP (IL Werfen) zeigten eine verminderte Wiederfindung (6).

In einem neueren Übersichtsartikel werden chromogene Testverfahren als durchgehend geeignet eingestuft, während Einstufentest unter Verwendung der aPTT-Reagenzien APTT-SP (IL Werfen), TriniCLOT (Stago) und STA PTT-Automate (Stago) aufgrund einer erniedrigten Wiederfindung von Esperoct explizit als ungeeignet angesehen werden (7).





In der kürzlich veröffentlichten „United Kingdom Haemophilia Centre Doctors’ Organisation“ (UKHCDO) guideline wird ebenfalls von der Verwendung dieser drei aPTT-Reagenzien abgeraten (8). Explizit empfohlen werden in der UKHCDO-guideline die folgenden aPTT-Reagenzien: Actin, Actin FS, Pathromtin SL (Siemens), SynthAFax (IL Werfen) and DG Synth (Grifols) (8).

Empfohlene Testsysteme zur Bestimmung der Aktivität von Esperoct

Auf Basis der vorstehend beschriebenen Studien und aufgrund der aus diesen teilweise ersichtlichen Widersprüchen werden an dieser Stelle die nachfolgend aufgeführten Empfehlungen hinsichtlich der Anwendung bestimmter aPTT-Reagenzien bzw. chromogener Testverfahren gegeben.

aPTT-Reagenzien:

Aktivator: Ellagsäure / Polyphenol

- ✓ Actin (Siemens)
- ✓ Actin FS (Siemens)
- Actin FSL (Siemens)
- SynthAFax (IL Werfen)
- ✓ DG Synth (Grifols)

Aktivator: Silica

- ✗ APTT SP (IL Werfen)
- ✗ TriniCLOT (Stago)
- ✗ STA PTT-Automate (Stago)
- SynthASil (IL Werfen)
- ✓ Pathromtin SL (Siemens)

Chromogene Testverfahren

- ✓¹ BIOPHEN FVIII:C chromogener Test (Hyphen)
- ✓¹ COAMATIC Faktor VIII (Chromogenix/IL Werfen)
- ✓¹ COATEST SP (Chromogenix/IL Werfen)
- ✓¹ Faktor VIII Chromogenic Assay (Siemens)

Legende:

- ✓ kann verwendet werden
- ✗ von der Verwendung wird abgeraten
- Evaluation empfohlen
- ¹ Überbewertung von bis zu 30% berücksichtigen, entsprechende Evaluation empfohlen.

Literatur

- 1) Stennicke et al. Blood. 2013;121: 2108-16.
- 2) Pickering et al. J Thromb Haemost. 2016; 14: 1579-87.
- 3) Tiede et al. J Thromb Haemost. 2013; 11: 670-8.
- 4) Giangrande et al. Thromb Haemost. 2017; 117: 252-61.
- 5) Meunier et al. Thromb Haemost. 2017; 117: 1705-13.
- 6) Hillarp et al. Haemophilia. 2017;23: 458-65.
- 7) Ezban et al. Haemophilia. 2020; 26: 156-163.
- 8) Gray et al. Haemophilia. 2020; 26: 6-16.



Empfehlungen zur Bestimmung der FVIII:C-Aktivität von Obizur

Struktur und Biochemie

Obizur (susoctocog alfa [Shire, nun Takeda]) ist ein rekombinanter, B-domänenfreier porziner Faktor VIII (1). Obizur ist ein Glykoprotein bestehend aus 1448 Aminosäuren mit einem Gesamtgewicht von ungefähr 175 kDa. Die B-Domäne wurde durch 24 Aminosäuren ersetzt, die sowohl das N- als auch das C-terminale Ende der ursprünglichen Sequenz umfassen (2). Die spezifische Aktivität beträgt ca. 10.000 Einheiten/mg Protein. Nach in vivo-Applikation bindet Obizur wie humaner FVIII in einem Verhältnis von 1:1 an von Willebrand Faktor (2).

16% der Aminosäuren der A2-Domäne und 24% der Aminosäuren der C2-Domäne sind gegenüber der humanen Sequenz verändert. Beide Domänen enthalten dominante Epitope bei der Hemmkörperentwicklung, somit kann eine verminderte Kreuzreaktivität hinsichtlich gegen humanen FVIII gerichteten Antikörpern erwartet werden.

Obizur wird in Nierenzellen von Babyhamstern (baby hamster kidney cells, BHK) mittels rekombinanter DNA-Technologie hergestellt. Bei der Herstellung werden weder humanes Serum noch tierische Proteine eingesetzt.

Pharmakokinetik und klinische Wirksamkeit

Die maximale FVIII-Aktivität konnte 30 Minuten nach Applikation beobachtet werden (1). Für fünf Patienten ohne Blutung konnte eine Halbwertszeit von 6,6 Stunden (1,8 - 17,0) beobachtet werden, für neun Patienten mit einer Blutung 10 Stunden (2,6 - 28,6). In Patient mit erworbener Hämophilie scheint die Bioverfügbarkeit von rekombinantem, porzinem Faktor VIII gegenüber plasmatischem, porzinem Faktor VIII um den Faktor 2 erhöht (2). Neben der empfohlenen Initialdosis von 200 E/kg Körpergewicht (KG) konnte in einer Fallstudie eine hämostaseologische Wirksamkeit auch bei reduzierter Dosis (100 E/kg KG) erreicht werden (4).

Bei 25 von 29 Patienten mit erworbener Hämophilie konnte nach 24 Stunden (im Mittel 3,5 Dosen in Intervallen von 10,2 Stunden) eine effektive Blutungsstillung erreicht werden (4 partiell effektiv) (5). Zehn Patienten zeigten initial Antikörper gegen porzinen FVIII, 5 weitere erwarben Antikörper im Laufe der Therapie. Bei 14 von 15 Patienten konnte eine effektive Stillung einer primären Blutung innerhalb von 24 Stunden beobachtet werden (1 partiell effektiv).

Obizur darf ausschließlich bei stationärer Behandlung unter Überwachung des Blutungszustandes eingesetzt werden (1). Die Wirksamkeit einer Injektion sollte nach 30 min und 3 Stunden durch eine Bestimmung des Faktor VIII-Spiegels überwacht werden. Durch eine mögliche Kreuzreaktivität kann bei Patienten mit Inhibitoren gegen Faktor VIII eine verminderte Recovery und/oder eine verkürzte Halbwertszeit beobachtet werden. In diesem Fall wird eine Weiterbehandlung in Abhängigkeit einer klinischen Wirksamkeit (Blutungsstillung) empfohlen. Ein möglicher Behandlungsalgorithmus wurde von Fosbury et al. skizziert (6).

Eigenschaften von Obizur in FVIII:C Testsystemen

Für Obizur wird die Anwendung aPTT-basierender Einstufentests empfohlen. Dabei verhalten sich Ellagsäure- oder Polyphenol-basierende Aktivatoren vergleichbar zu Silikat- oder Kaolin-basierenden Aktivatoren (7). In chromogenen Zweistufentests wurde eine verminderte Recovery beobachtet, die Diskrepanz erhöht sich mit fallendem porzinen FVIII-Spiegel (Verhältnis Ein- zu Zweistufentest: 1,85 bei 0,8 E/mL; 2,25 bei 0,2 E/mL; 3,00 bei 0,05 E/mL).

>



Eine Unterscheidung zwischen humanen und porzinen Faktor VIII ist in beiden Testsystemen nicht möglich. Die inhibitorische Aktivität von Antikörpern gegen Obizur kann sowohl im Bethesda- als auch im Nijmegen-Bethesda-Assay bestimmt werden. Dabei muss Obizur als Faktor VIII Quelle eingesetzt werden.

Empfohlene Testsysteme zur Bestimmung der Aktivität von Obizur

Für die Spiegelbestimmung werden aPTT-basierende Einstufentests empfohlen. Von der Verwendung chromogener Zweistufentests wird aufgrund der verminderten Wiederfindung abgeraten.

Alle unten angeführten Testsysteme wurden von den an der veröffentlichten Feldstudie teilnehmenden Laboratorien verwendet und werden somit auch an dieser Stelle entsprechend aufgeführt.

aPTT-Reagenzien:

Aktivator: Ellagsäure / Polyphenol

- ✓ Actin FS (Siemens)
- ✓ Actin FSL (Siemens)
- ✓ Cephascreen (Stago)

Aktivator: Silica

- ✓ aPTT-SP (IL Werfen)
- ✓ SynthASil (IL Werfen)
- ✓ aPTT-SS (IL Werfen)
- ✓ STA-PTT Automate (Stago)
- ✓ TriniCLOT aPTT S (nunmehr Stago)

Aktivator: Kaolin

- ✓ CK Prest (Stago)

Chromogene Testverfahren:

- ✗ Factor VIII Chromogenic Assay (Siemens)
- ✗ Coamatic Factor VIII (Chromogenix)
- ✗ Electrachrome FVIII (IL Werfen)

Legende:

- ✓ kann verwendet werden
- ✗ von der Verwendung wird abgeraten

Literatur

- 1) Europäische Arzneimittelagentur EMA. European Public Assessment Report: Obizur, Anhang I.
- 2) Burness CB und Scott LJ. Drugs. 2016; 76: 815-21.
- 3) Kempton et al. Haemophilia. 2012; 18: 798-804.
- 4) Martin et al. Haemophilia. 2016; 22: e549-e51.
- 5) Kruse-Jarres et al. Haemophilia. 2015; 21: 162-70.
- 6) Fosbury et al. Ther Adv Hematol. 2017; 8: 263-72.
- 7) Turecek et al. Haemophilia. 2016; 22: 957-65.