Evaluation der Thrombingenerierungsassay mit dem Einsatz von Faktor XIa als neues Startreagenz bei Hämophilie A Patienten unter Emicizumab Therapie

Marcel, Marti, BMA 21-24

Bildungsgang biomedizinische Analytik HF

Zentrum für Labormedizin Inselspital Bern, Hämostase

;medi

22.August 2024

1. Zusammenfassung

Thrombingenerierungsassays (TGA) sind globale Gerinnungstests [1 Sidonio et al., 2023, S. 1-9]. Der wichtigste Parameter ist das endogene Thrombinpotenzial (ETP) (Einheit: nM × min). Hämophilie A ist eine Erkrankung, die vermehrte Blutungen verursacht [3 Konkle & Nakaya Fletcher, 1993]. Emicizumab (Hemlibra®) ist eine mögliche Therapieoption [4 Blair, 2019]. Bei diesen Patienten zeigt die TGA im Vergleich zum Normalplasma eine verminderte Thrombinproduktion. Aktuelle Studien haben gezeigt, dass die TGA-Ergebnisse optimiert werden, wenn tissue factor (TF) und Faktor XIa (FXIa) als Startreagenz verwendet werden [5 Lund et al., 2023, S. 1495]. In dieser Arbeit wurden TGAs aus Proben durchgeführt, bei denen entweder nur FXIa 1,5 pmol/L oder FXIa 1,5 pmol/L + Bleedscreen TF als Startreagenz verwendet wurde. Die ETP der Patienten war reduziert, wenn FXIa anstelle von Bleedscreen TF als Startreagenz verwendet wurde. Sie stieg durchschnittlich um 192,8, wenn FXIa und Bleedscreen TF gemeinsam als Startreagenz verwendet wurden und näherte sich somit den Normalwerten des Normalplasmas an, jedoch war die Erhöhung ungenügend. Alle Korrelationsanalysen ergaben, dass keine monotone oder lineare Korrelation zwischen dem Emicizumabspiegel im Blut und der ETP-Höhe besteht.

2. Einleitung

TGA sind globale Gerinnungstests, die den gesamten Gerinnungsprozess besser erfassen als herkömmliche Gerinnungstests [1 Sidonio et al., 2023, S. 1-9]. In der Routine wird normalerweise Bleedscreen als Startreagenz verwendet, das TF enthält. TF ist der essenziellste Initiator der plasmatischen Gerinnung. Der wichtigste Parameter der TGA ist die ETP (nM × min). Die Verwendung von FXIa als neues Startreagenz bei TGA verbesserte die Sensitivität [2 Waters et al., 2015, S. 2041-2045]. Hämophilie A ist eine Erkrankung, die aufgrund eines Mangels an Faktor VIII zu vermehrten Blutungen führt [3 Konkle & Nakaya Fletcher, 1993]. Emicizumab (Hemlibra®) ist eine mögliche Therapieoption. Es handelt sich um einen monoklonalen Antikörper, der die Cofaktorfunktion des fehlenden Faktor VIII durch die Bildung einer Brücke zwischen Faktor IXa und Faktor X übernimmt [4 Blair, 2019]. Bei Hämophilie A Patienten mit hohen Emicizumab-Blutspiegeln zeigt die TGA im Vergleich zum Normalplasma eine verminderte Thrombinproduktion. Aktuelle Studien haben gezeigt, dass die TGA-Ergebnisse das gesamte Potenzial der Thrombinproduktion besser widerspiegeln, wenn als Startreagenz TF und FXIa verwendet werden [5 Lund et al., 2023, S. 1495]. Andere Studien zeigten denselben Effekt, wenn nur FXIa als Startreagenz verwendet wurde [2 Waters et al., 2015, S. 2042-2043].

3. Ziel und Fragestellungen

Ziel: Evaluation der TGA mit dem Einsatz des neuen Startreagenz FXIa bei Hämophilie A Patienten unter Emicizumab Therapie, auf dem Stago STGenesia®.

Fragestellungen: Ist die ETP von Hämophilie A Patienten unter Emicizumab Therapie gestiegen und somit näher an den Normalwert des Normalplasmas herangerückt, wenn als Startreagenz FXIa anstelle des TF verwendet wurde? Ist die ETP von Hämophilie A Patienten unter Emicizumab Therapie gestiegen und somit näher an den Normalwert des Normalplasmas herangerückt, wenn als Startreagenz FXIa und TF verwendet wurde?

Korreliert die Höhe des Emizicumabspiegels im Blut von Hämophilie A Patienten unter Emicizumab mit der Höhe des TGA-Parameter ETP, wenn als Startreagenz FXIa anstelle des TF verwendet wurde? Korreliert die Höhe des Emizicumabspiegels im Blut von Hämophilie A Patienten unter Emicizumab mit der Höhe des TGA-Parameter ETP, wenn als Startreagenz FXIa und TF verwendet wurde?

4. Material, Methodik, Vorgehen

Die Studie umfasste 24 männliche Patienten, die mit Emicizumab behandelt wurden. Es wurden insgesamt 55 Proben von diesen Patienten analysiert. Die TGAs wurden sowohl aus den Patientenproben als auch aus einem Normalplasmapool durchgeführt, einmal mit FXIa 1,5 pmol/L allein und einmal mit FXIa 1,5 pmol/L in Kombination mit dem Bleedscreen TF. Die Ergebnisse, die nur mit Bleedscreen TF erzielt wurden, sowie die Emicizumab-Blutspiegel stammen aus der Routinearbeit der ZLM-Hämostase.

5. Ergebnisse/ Resultate

Korrelation nach Spearmen: (n = 29) FXIa Methode, r = 0,2639;
(n = 52) FXIa + Bleedscreen TF Methode, r = 0,003543.
Korrelation nach Pearson: (n = 29) FXIa Methode, r = 0,3496;
(n = 52) FXIa + Bleedscreen TF Methode, r = -0,01242.

Der Normalplasmapool zeigte eine ETP von 1090, wenn Bleedscreen TF + FXIa verwendet wurde.

Bland-Altman-Analysen ergaben, dass die ETP bei Verwendung von FXIa allein im Durchschnitt um 352,3 nM × min niedriger lag als bei Verwendung von Bleedscreen TF (Abbildung 1).
Die ETP war im Durchschnitt um 192,8 nM × min höher, wenn FXIa in Kombination mit Bleedscreen TF verwendet wurde. Es gab zwei Ausreisser in den Ergebnissen (Abbildung 2).

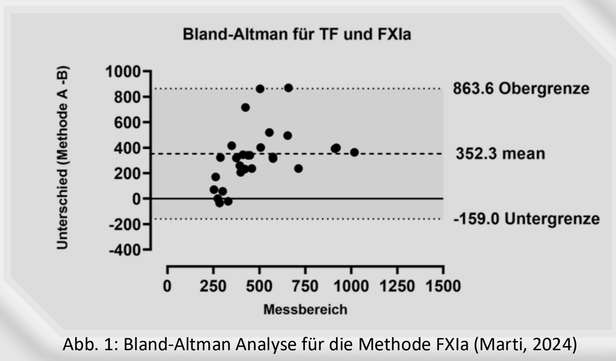


Abb. 1: Bland-Altman Analyse für die Methode FXIa (Marti, 2024)

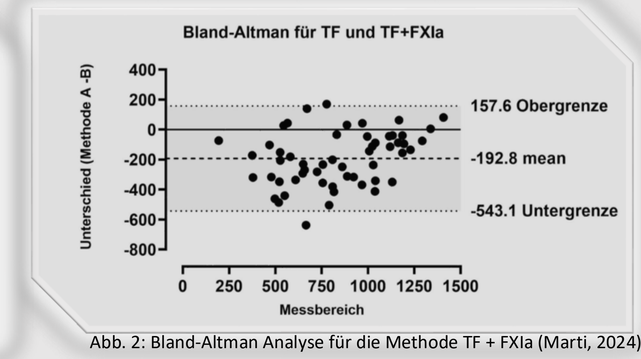


Abb. 2: Bland-Altman Analyse für die Methode TF + FXIa (Marti, 2024)

6. Diskussion

Die ETP von Hämophilie A Patienten unter Emicizumab-Therapie war reduziert, wenn FXIa anstelle von Bleedscreen TF als Startreagenz verwendet wurde. Das erwünschte Ergebnis wäre eine Zunahme der ETP gewesen, somit hat diese Methode unter den Umständen dieser Arbeit das Ziel nicht erreichen können.
Sie stieg durchschnittlich um 192,8 an, wenn FXIa in Kombination mit Bleedscreen TF verwendet wurde, und näherte sich somit dem Normalplasma-Wert an. Somit hat diese Methode unter den Umständen dieser Arbeit das Ziel erreichen können, jedoch befinden sich die meisten Resultate immer noch unterhalb des Wertes des Normalplasmas von 1090 (siehe Abbildung 2 Messbereich). Da davon auszugehen ist, dass Hämophilie A Patienten unter Emicizumab-Therapie eine annähernd normale Gerinnungsreaktion zeigen sollten, da kaum noch Symptome vorhanden sind, ist diese Erhöhung um 192,8 offenbar unzureichend. Vermutlich fielen die Ergebnisse nicht stark genug aus, weil FXIa durch das Verdünnungsreagenz nicht seine volle Wirkung entfalten konnte. Somit würde sich eine Wiederholung der Methode anbieten mit einem schonenderen Verdünnungsreagenz wie zum Beispiel mit HEPES-Buffer.

Alle Korrelationsanalysen ergaben einen Wert, der näher an 0 als an 1 oder -1 lag, was darauf hindeutet, dass keine monotone oder lineare Korrelation zwischen dem Emicizumabspiegel im Blut und der ETP-Höhe besteht. Zu dieser Fragestellung gab es keinerlei Erwartungshaltung, wie das Resultat ausfallen sollte. Dieses Resultat diente lediglich der Beantwortung der Neugierde der Forschungsgruppe.

Das Ziel konnte soweit erfüllt werden, dass die TGA mit dem Einsatz des neuen Startreagenz FXIa bei Hämophilie A Patienten unter Emicizumab Therapie, auf dem STGenesia® ausgetestet werden konnte, jedoch erwies sich die Methode als unzureichend unter den Bedingungen dieser Arbeit.

Referenzen

[1] Sidonio et al. (2023, S. 1-9)
[2] Waters et al. (2015, S. 2041-2045)
[3] Konkle & Nakaya Fletcher (1993)
[4] Blair (2019)
[5] Lund et al. (2023, S. 1495)

Abbildungen

Abb. 1 Marti, M. (2024). *Bland-Altman Analyse für die Methode FXIa.* medi.
Abb. 2 Marti, M. (2024). *Bland-Altman Analyse für die Methode TF + FXIa.* medi.