



Minimalinvasive Proben für das Monitoring oraler Tumorthérapien - Herausforderungen und Chancen

Prof. Dr. Oliver Scherf-Clavel
Klinische Pharmazie und Pharmakotherapie
O.Scherf-Clavel@lmu.de



Setting:

Orale Proteinkinaseinhibitoren sind eine moderne Klasse von Krebsmedikamenten

| | |
|---|---|
| “zielgerichtete” Substanzen | → off-Target Effekte, schwere Nebenwirkungen |
| orale Anwendung | → Potenzial für Interaktionen |
| meist ambulante Behandlung | → seltener Arztkontakt |
| Einnahme unabhängig von medizinischem Personal | → größere Verantwortung bei den Patienten |

Patienten, die eine orale Antitumorthherapie erhalten, sind eine Risikogruppe für arzneimittelbezogene Probleme (ABP)

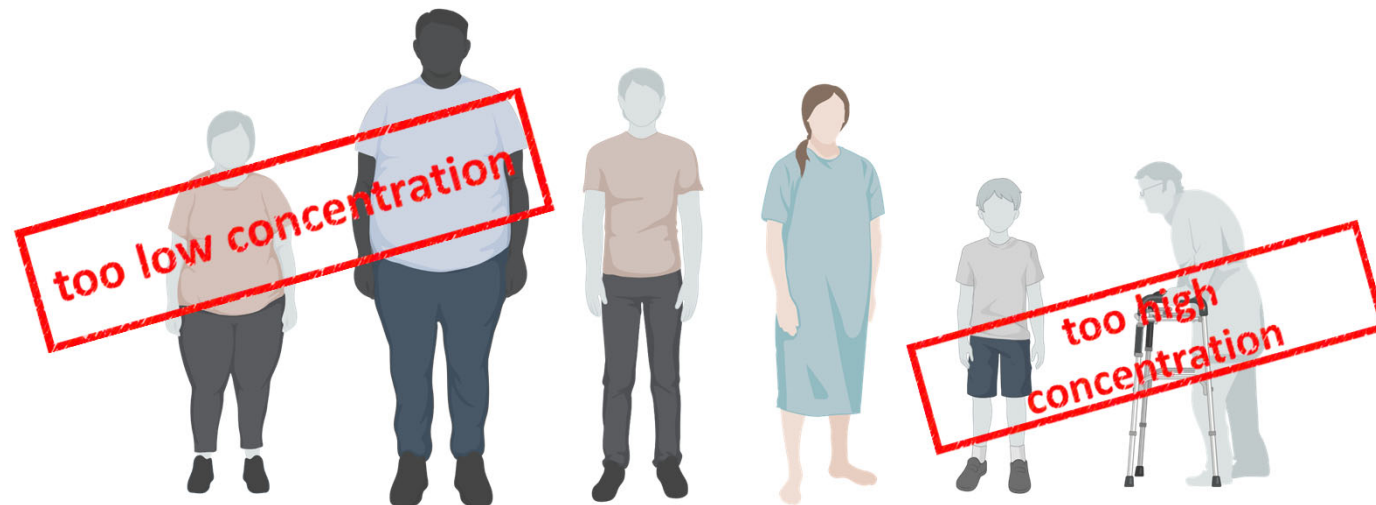
Setting:

Fast alle oral verabreichten, zielgerichteten antineoplastischen Medikamente werden nach dem Prinzip **"One-size-fits-all"** dosiert.

Aber es ist keine Raketenwissenschaft...



... was passiert, wenn diese Patienten die gleiche Dosis eines bestimmten Arzneimittels erhalten?



Setting:

Fast alle oral verabreichten, zielgerichteten antineoplastischen Medikamente werden nach dem Prinzip **"One-size-fits-all"** dosiert



30 % der Patienten erhalten eine zu niedrige Dosis

➔ Risiko einer suboptimalen Wirksamkeit

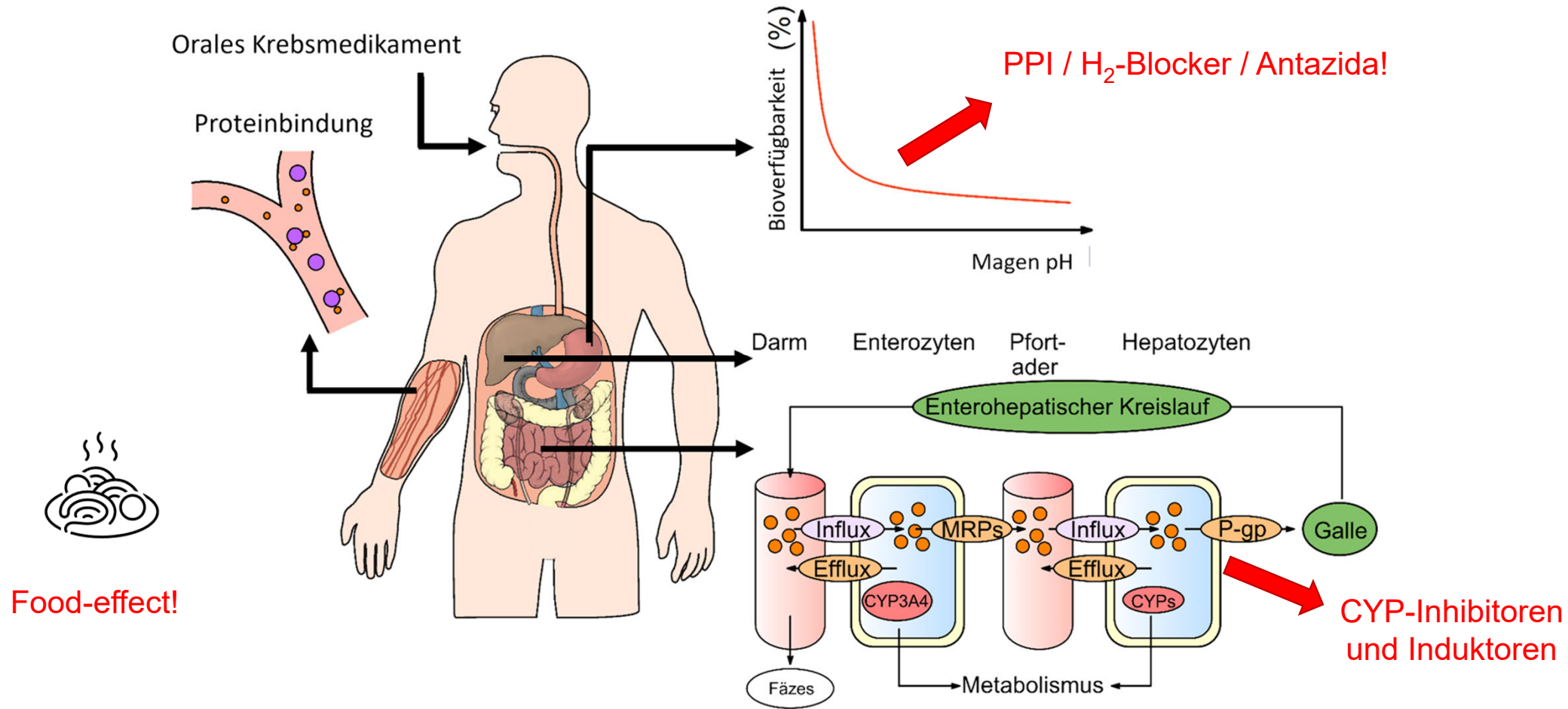


15 % der Patienten erhalten eine zu hohe Dosis

➔ Risiko einer erhöhten Toxizität

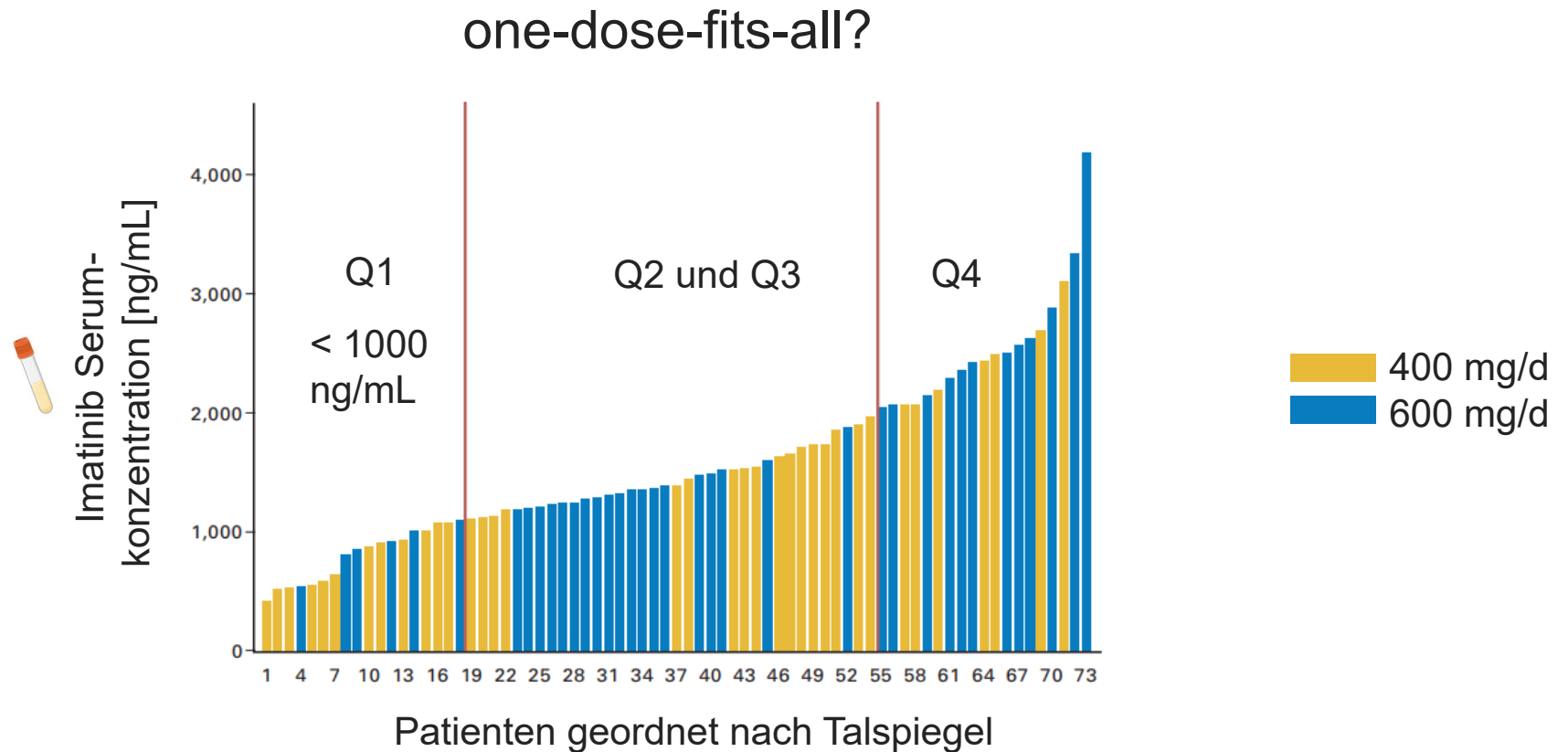


Darüber hinaus sind orale Krebsmedikamente anfällig für Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten und/oder Nahrungsmitteln



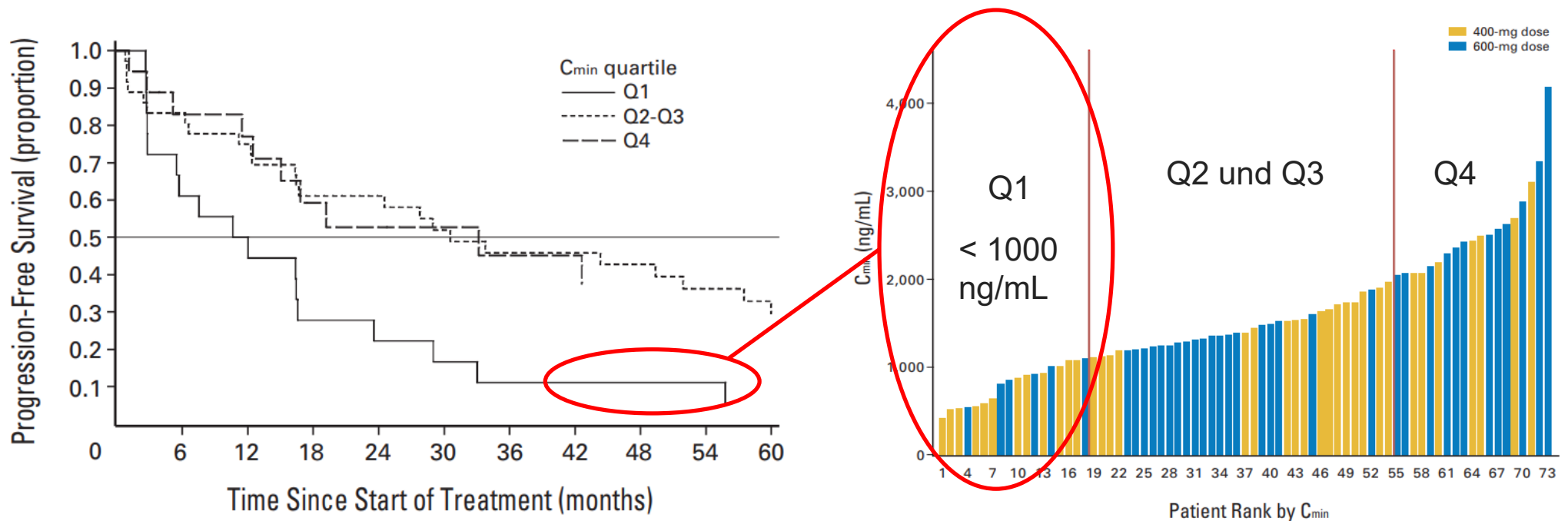
Das Problem:

Beispiel: Imatinib bei chronisch-myeloischer Leukämie (CML) PK/PD-Variabilität

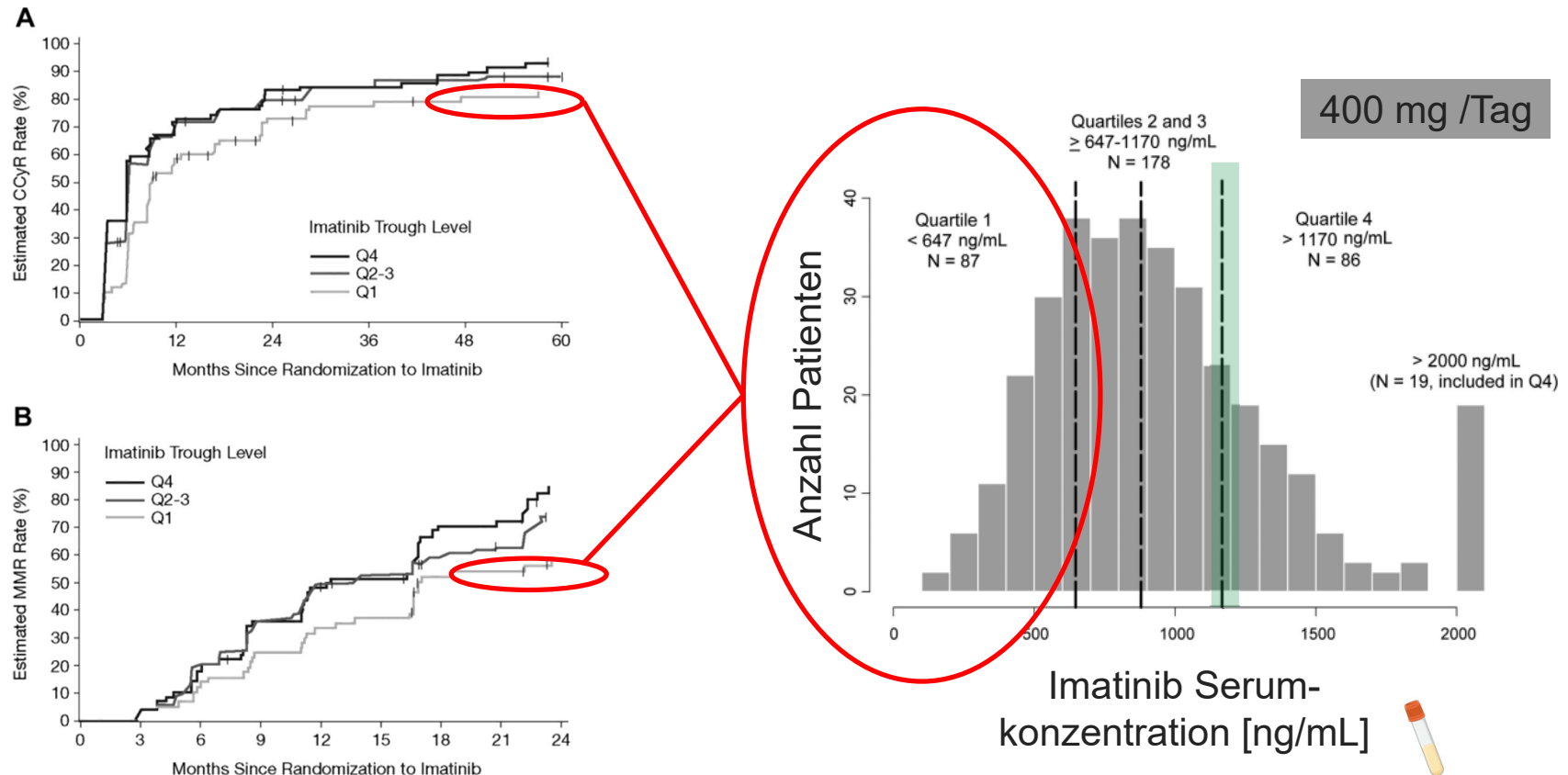


Das Problem:

Imatinib-Konzentration unter 1000 ng/ml ist ein Risikofaktor für das Fortschreiten der Erkrankung



Der therapeutische Erfolg von Imatinib hängt GANZ KLAR von der erreichten Serumkonzentration ab → Warum wird/wurde das nicht kontrolliert?



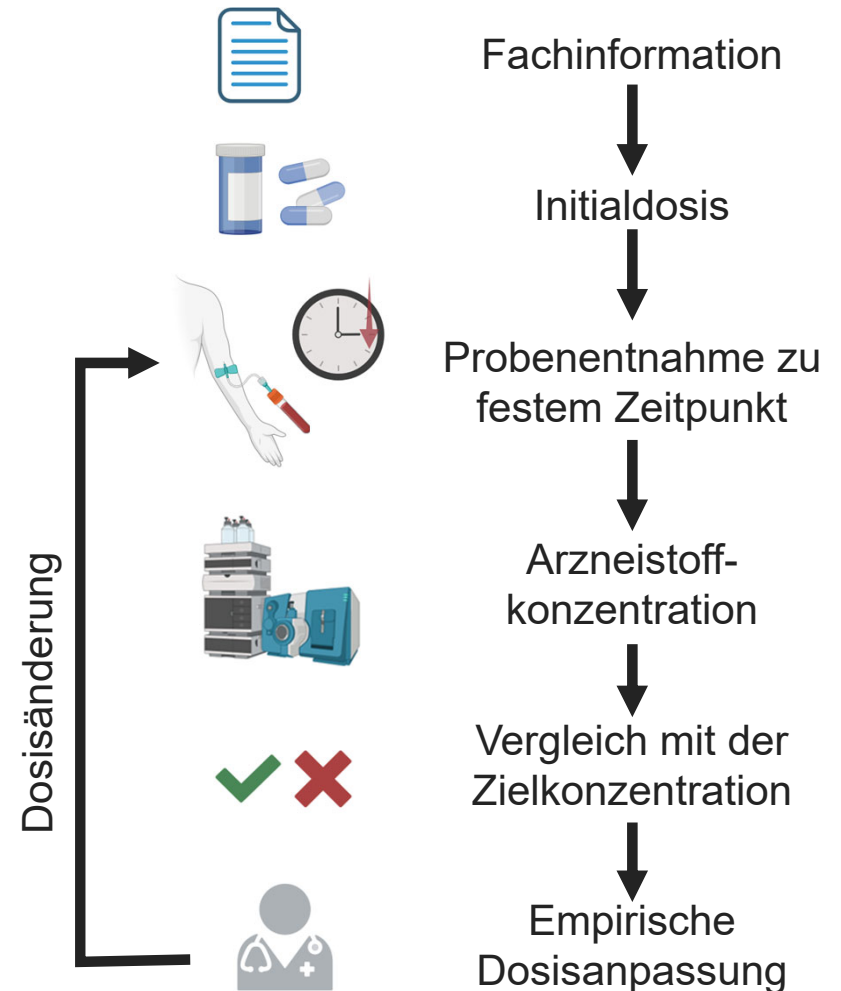
Therapeutisches Drug Monitoring kann zur Verringerung der pharmakokinetischen Variabilität beitragen (und damit das Outcome verbessern)

TDM = PK-gesteuerte Dosisinterventionen
Durchführbar für eine Reihe von Substanzen
Evidenz für ältere Substanzen **erdrückend!**

Hindernisse bei der Einführung von TDM:



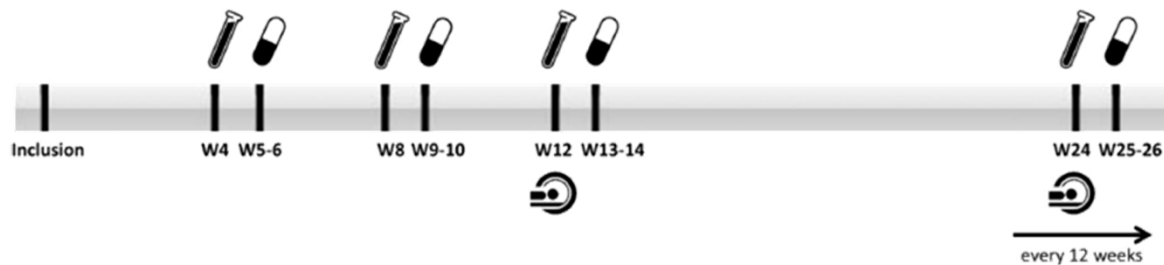
- fehlende/unklare PK/PD-Beziehung
- Dosissteigerung??
- **Praktische Umsetzung**





Nachweis der grundsätzlichen Machbarkeit von TDM bei oralen Krebsmedikamenten in anderen Ländern bereits erbracht: DPOG

Therapeutic Drug Monitoring of Oral Anticancer Drugs: The Dutch Pharmacology Oncology Group–Therapeutic Drug Monitoring Protocol for a Prospective Study

Stefanie L. Groenland, MD,* Ruben A. G. van Eerden, BSc,† Remy B. Verheijen, PharmD, PhD,‡
 Stijn L. W. Koolen, PharmD, PhD,†§ Dirk Jan A. R. Moes, PharmD, PhD,¶ Ingrid M. E. Desar, MD, PhD,||
 Anna K. L. Reyners, MD, PhD,** Hans J. Gelderblom, MD, PhD,†† Nielka P. van Erp, PharmD, PhD,‡‡
 Ron H. J. Mathijssen, MD, PhD,† Alwin D. R. Huitema, PharmD, PhD,‡§§ and Neeltje Steeghs, MD, PhD,*
 on behalf of the Dutch Pharmacology Oncology Group (DPOG)



 PK samples will be drawn 4, 8, and 12 weeks after start of treatment and every 12 weeks thereafter, except for compounds with a long half-life or an intermittent dosing schedule (for more details, see Table 1)

 TDM recommendations will be provided to the treating physician; these could include PK-guided interventions such as emphasizing compliance, adaptations in concomitant medication (due to drug-drug interactions), instructions to take the drug concomitant with food, splitting intake moments, or the recommendation to increase the dose


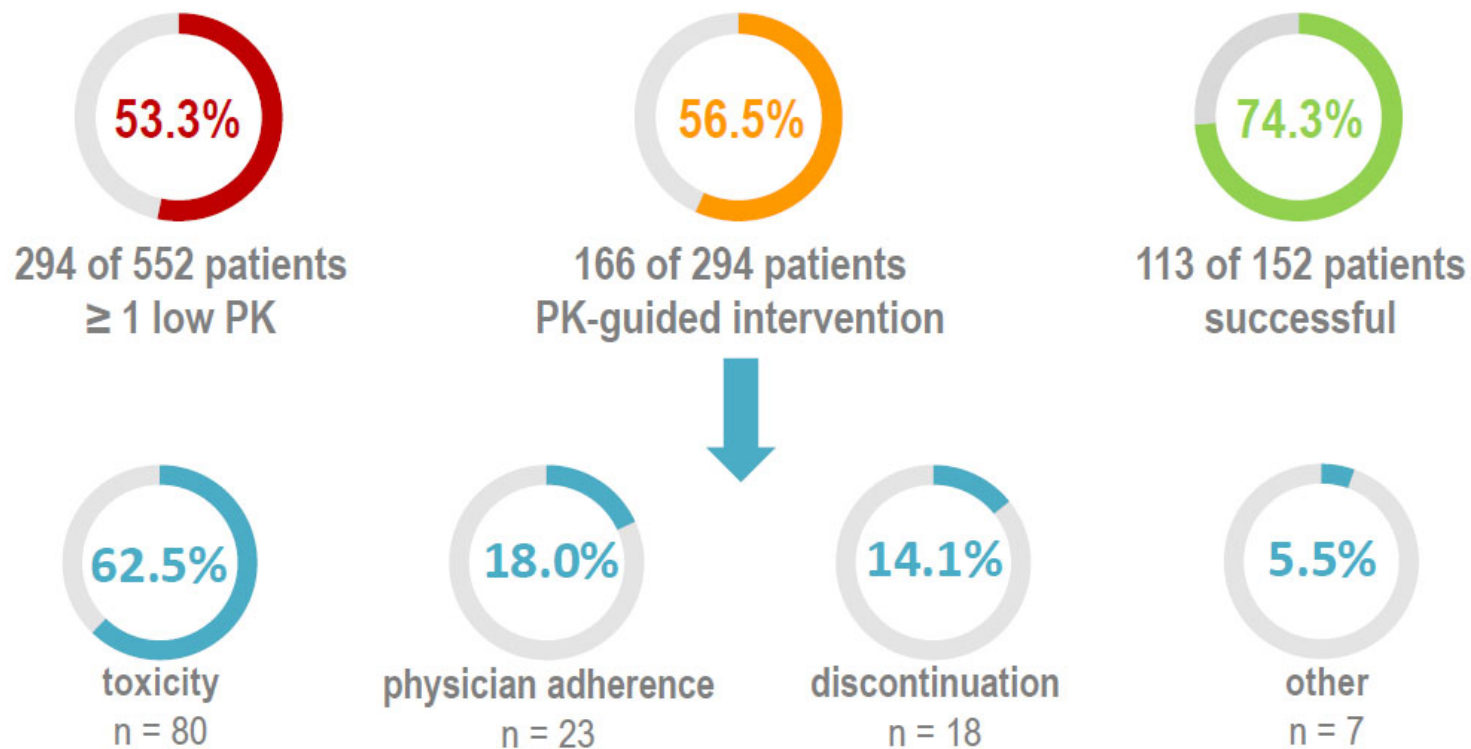
 Tumor assessments will be performed according to the standard of care

TABLE 2. Historical Data of the Percentage of Patients Below TDM Target per Oral Anticancer Drug

| Drug | Patients Below TDM Target at Standard Dose (%) | Reference |
|--------------|--|-----------|
| Abiraterone | 35 | 25 |
| Alectinib | 33 | 26 |
| Axitinib | 38 | 27 |
| Bosutinib | 50 | 28 |
| Cobimetinib | 50 | 29 |
| Crizotinib | 25 | 30 |
| Dasatinib | 50 | 31 |
| Enzalutamide | 2 | 32 |
| Erlotinib | 11 | 3 |
| Everolimus | 37 | 33 |
| Gefitinib | 26 | 34 |
| Imatinib | 73 | 3 |
| Nilotinib | 25 | 35 |
| Olaparib | 50 | 36 |
| Palbociclib | 50 | 37 |
| Pazopanib | 16–20 | 38,39 |
| Regorafenib | 50 | 40 |
| Sorafenib | 50 | 41 |
| Sunitinib | 49 | 3 |
| Tamoxifen | 20 | 42 |
| Trametinib* | 27 | 43 |
| Vemurafenib | 52 | 44 |
| Vismodegib | 50 | 45 |

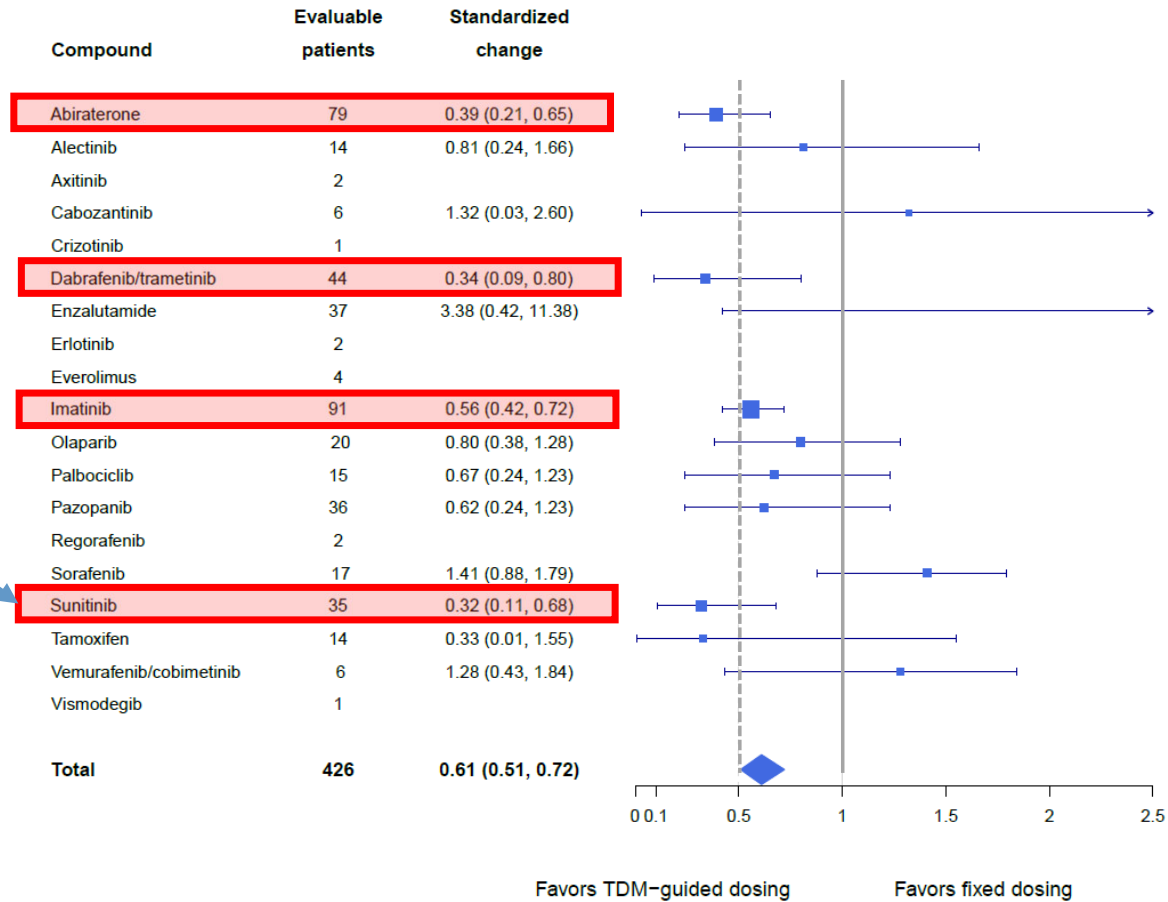
*Data reported only for trametinib, as for dabrafenib, no dose adjustments will be recommended because little evidence for an exposure–response relationship for dabrafenib is available.

Nachweis der grundsätzlichen Machbarkeit von TDM bei oralen Krebsmedikamenten in anderen Ländern bereits erbracht: DPOG



Nachweis der grundsätzlichen Machbarkeit von TDM bei oralen Krebsmedikamenten in anderen Ländern bereits erbracht: DPOG

Abirateron
 Trametinib
 Imatinib
 Sunitinib





Microsampling für das TDM die Herausforderungen



Microsampling ist eine Alternative zur klassischen venösen Blutprobe für das **TDM von ambulanten oralen Krebstherapien**

moderne Microsampling Methoden sind eine Weiterentwicklung des *dried-blood-spot* (DBS)

DBS benötigen ein geringes Blutvolumen



Das exakte Volumen pro Spot ist allerdings unbekannt



Die Dicke der getrockneten Blutschicht hängt vom HCT ab

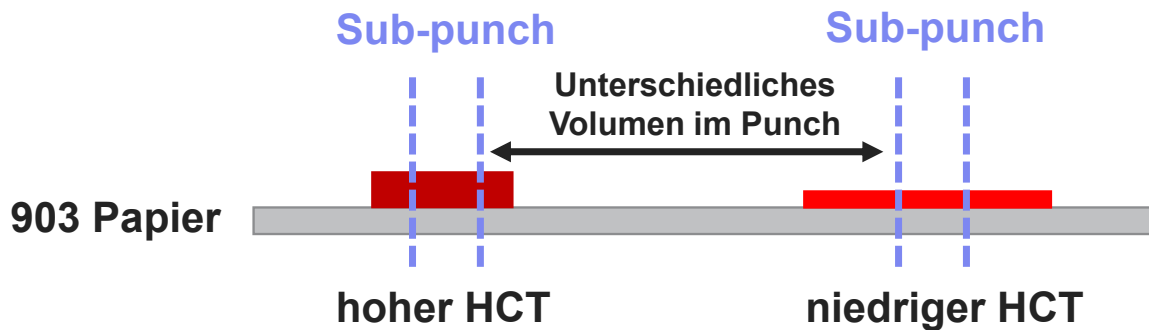


seit ca. 1963
„Heel-Prick-Test“

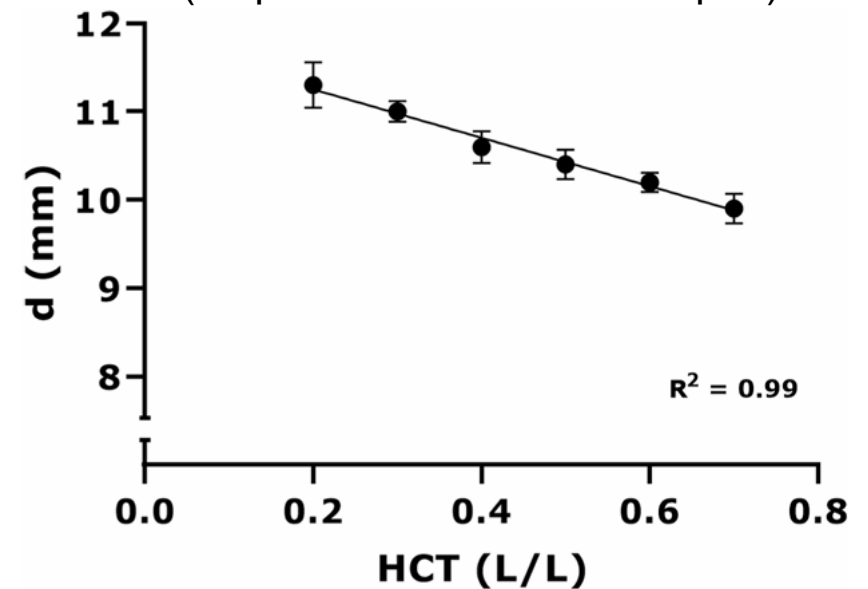
Der Hämatokrit-Effekt verhindert eine zuverlässige Quantifizierung

Da das exakte Volumen unbekannt ist ...

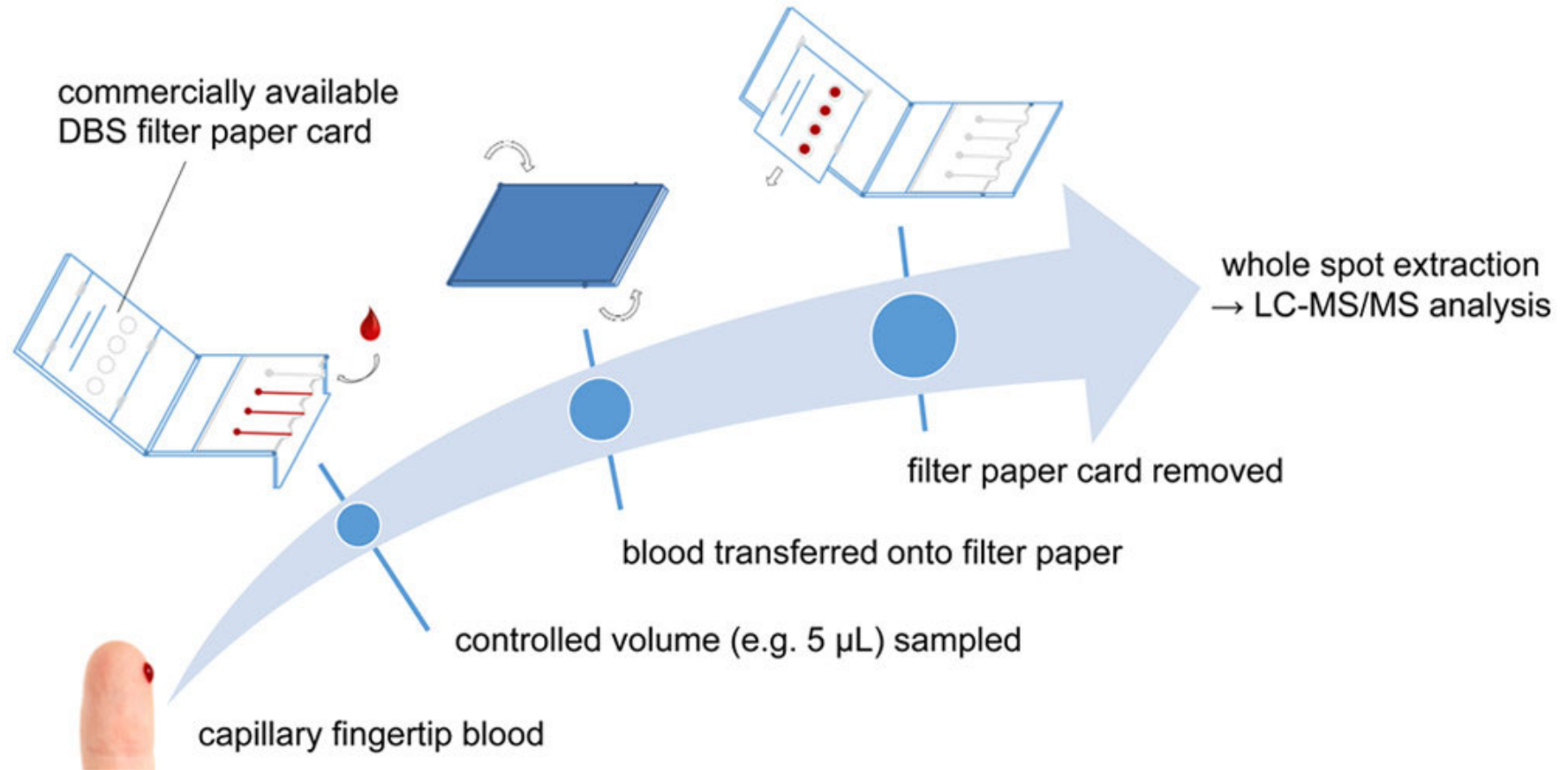
➔ „sub-punching“ (Ausstanzen)
Zylinder getrockneten Blutes
mit bekanntem Radius



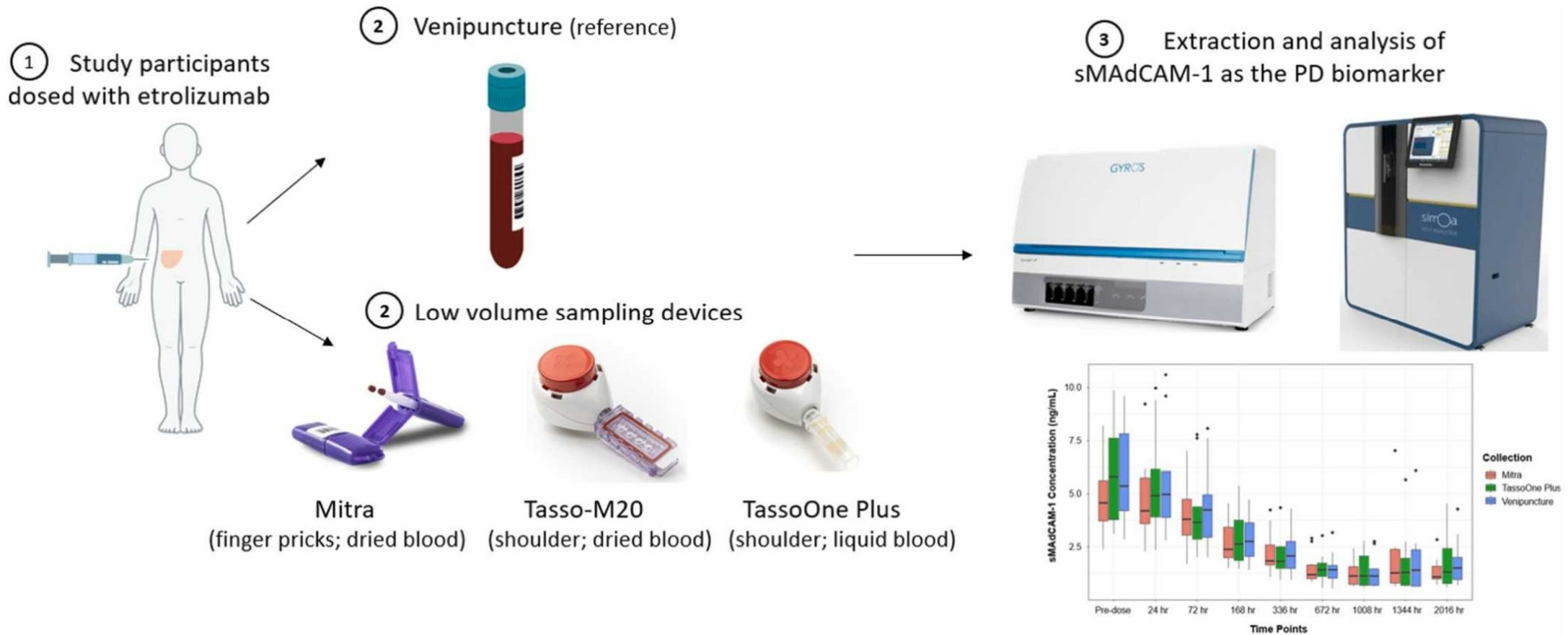
Spotdurchmesser vs. Hämatokrit
(35 μL Blut auf S&S 903 Papier)



Quantitative dried blood sampling Methoden nahmen sich dieses Problems an
mikrofluidische devices übernehmen das volumetrische Sampling

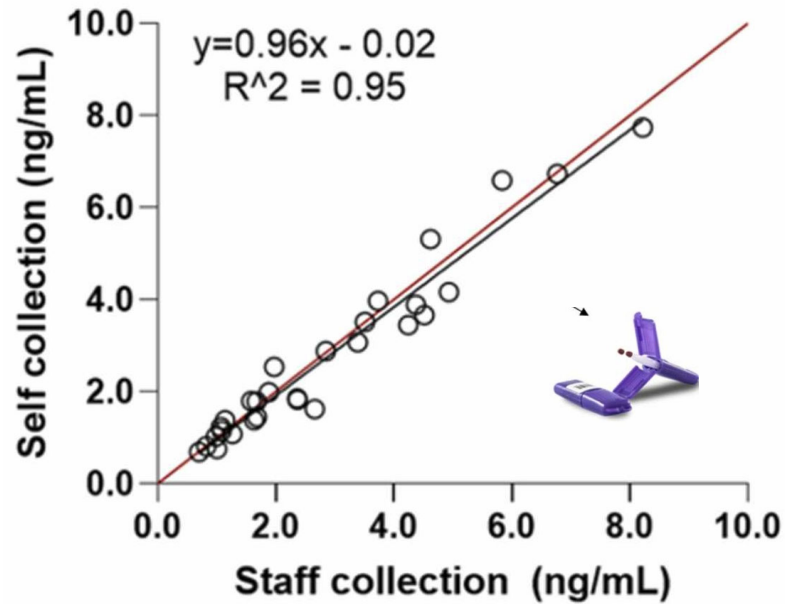


In den letzten Jahren wurden viele neue Entwicklungen auf dem Gebiet des microsamplings voran gebracht

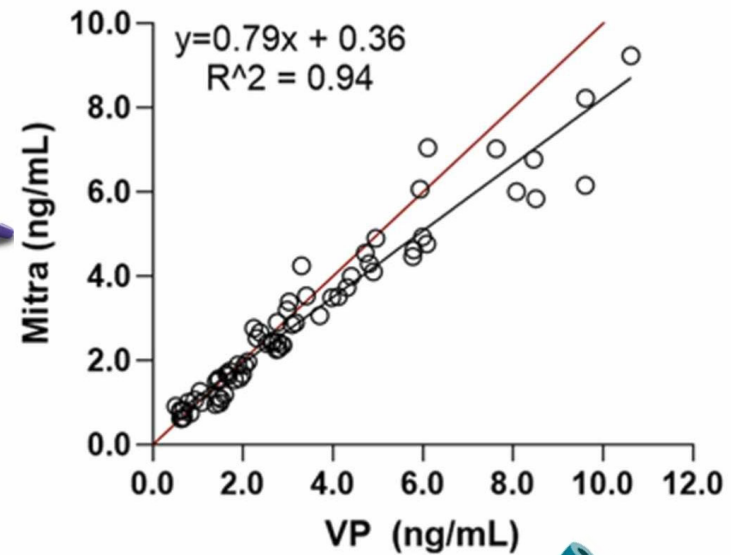


Wie ist die Vergleichbarkeit zwischen **entnehmenden Personen**?
Wie ist die Vergleichbarkeit zwischen **venösem Blut und kapillärem Blut**?

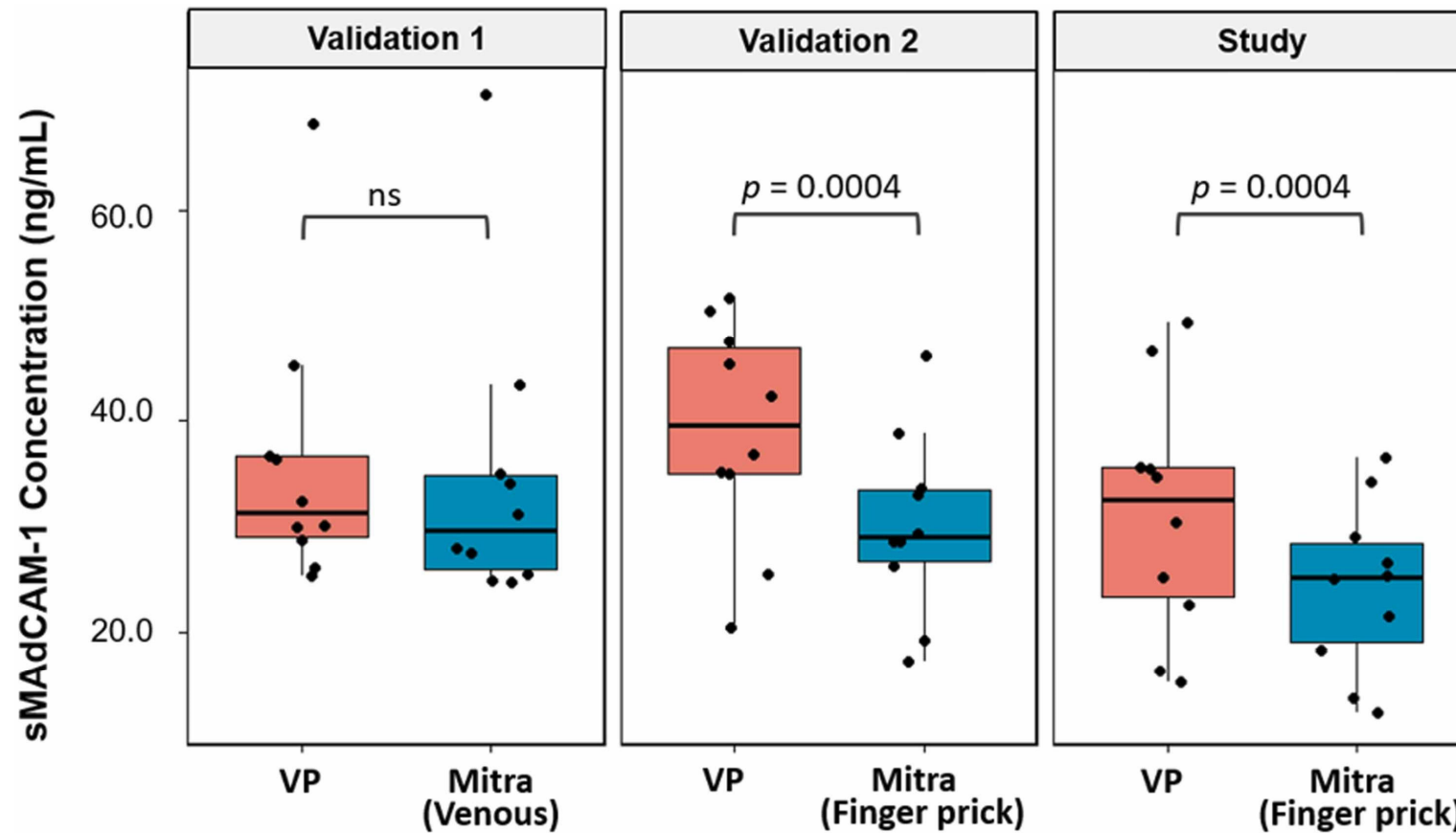
Medizinisches Fachpersonal vs. Patient



getrocknetes Kapillarblut vs. venöses Blut



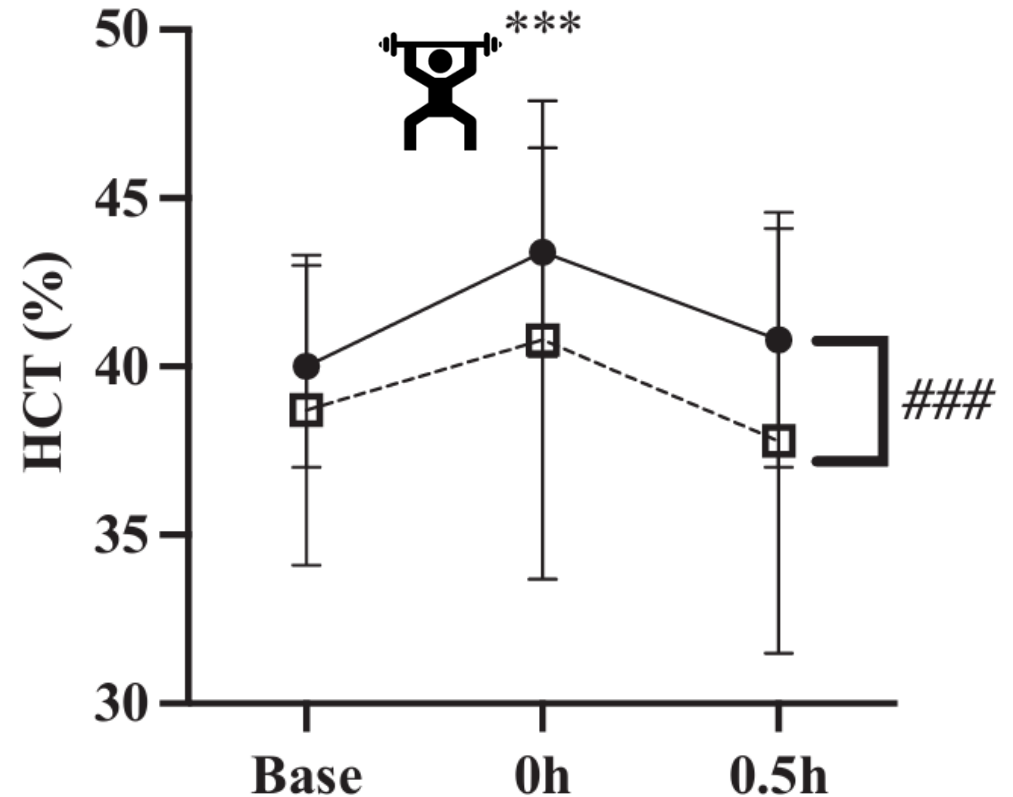
Unterschiede MITRA VAMS vs. venöses Blut bestehen, wenn MITRA VAMS mit Kapillarblut befüllt wurden: **Kapillarblut ist nicht gleich venösem Blut**



Körperliche Aktivität / Training kann die Zusammensetzung des Kapillarblutes beeinflussen

Unterschiede zwischen venösen und kapillärem Blut sind dynamisch!

relevant könnten Unterschiede im Hämatokrit werden, wenn Analyten sich nicht gleichmäßig zwischen Serum und zellulären Bestandteilen verteilen



Körperliche Aktivität / Training kann die Zusammensetzung des Kapillarblutes beeinflussen

Kapilläres Blut

- quasiarteriell
- Gewebeflüssigkeit
- Veränderungen im Gefäßwiderstand
 - ➔ Filtrationsdruck!

! WICHTIGE INFORMATION !

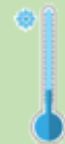
Zur **korrekten Entnahme** sind **ausreichend durchblutete Hände** wichtig. Bei der Entnahme der Kapillarblutproben kann es ansonsten zu Verfälschungen des Messergebnisses kommen.

Beachten Sie daher bitte die folgenden Hinweise:



DOs

- Hände zum Aufwärmen mit **warmem Wasser waschen**
- Insbesondere bei **kaltem Wetter**: Patient:Innen Zeit zum **Akklimatisieren** geben
- Durchblutung anregen durch leichtes **Aneinanderreiben** der Hände
- Bei bekannten **Durchblutungsstörungen** bitte **Rücksprache** mit dem Team



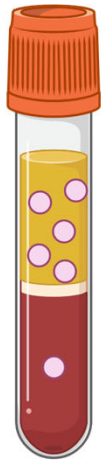
DON'Ts

- **Hände** und Finger bei der Blutentnahme **NICHT quetschen**
- **Hände** und Finger vor und während der Entnahme **NICHT massieren**

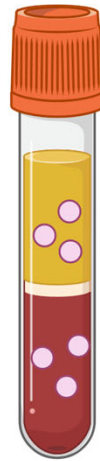


Abhängigkeit der Messwerte vom Hämatokrit ist durch ungleichmäßige Verteilung zwischen Blutzellen und Plasma begründet: 3 Extremfälle

kaum Verteilung in zelluläre Bestandteile

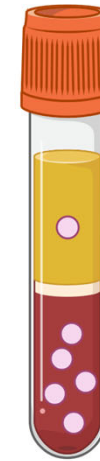


gleichmäßige Verteilung in zelluläre Bestandteile

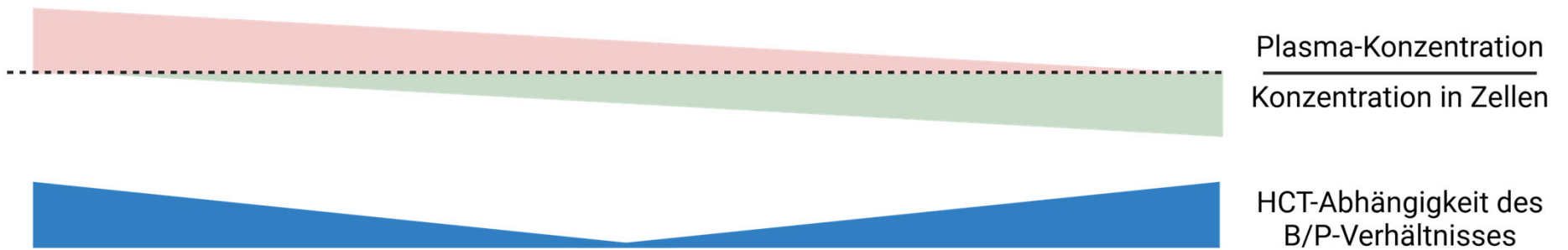


Plasmakonzentration = variabel

ausgeprägte Verteilung in zelluläre Bestandteile



Blutkonzentration = konstant



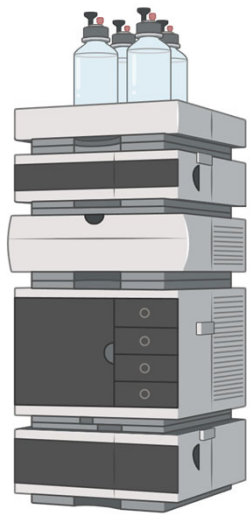
Abhängigkeit der Messwerte vom Hämatokrit ist durch **ungleichmäßige Verteilung** zwischen **Blutzellen und Plasma** begründet

Kapilläres Blut kann **andere Messwerte** zeigen als venöses Blut
→ Andere Zusammensetzung der Matrizes

Kapilläres und venöses Blut kann **andere Messwerte** zeigen als Serum bzw. Plasma

Ob und wie Ausprägung der Unterschiede hängen von der **untersuchten Substanz** ab

Probenvolumina sind sehr klein, Analytkonzentrationen mitunter extrem niedrig (teilweise < 1 ng/mL): **Empfindliche Messmethoden notwendig**



HPLC-UV

niedrige Kosten
breite Verfügbarkeit



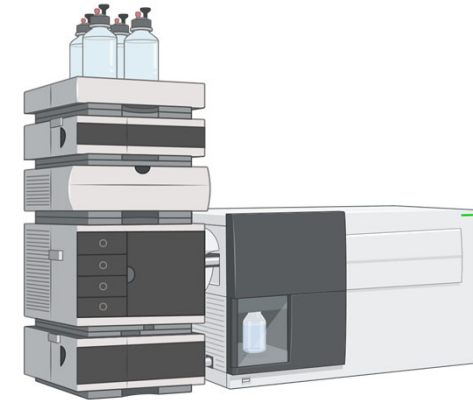
Interferenzen mit Komedikation
Interferenzen mit Blutbestandteilen
nur für wenige Substanzen geeignet



(U)HPLC-MS/MS

teures Instrument (auch Unterhalt)
geschultes Personal/Spezialisten notwendig
aufwändige Methodenentwicklung

sehr niedrige Nachweisgrenze
hoher Probendurchsatz
zahlreiche Methoden publiziert



Andere Herausforderungen: Analytik der minimalinvasiven Proben

Die bioanalytischen Herausforderungen unterscheiden sich von „klassischen“ bioanalytischen Methoden und sind spezifisch für das **microsampling device**

- Protokoll zur **Extraktion**

- Wiederfindung hängt vom Probenalter ab
- hohe Extraktionseffizienz notwendig



getrocknete Proben rekonstituieren
mechanisch unterstützte Extraktion

- **Stabilität** der Proben

- Luftfeuchte während Lagerung / Transport
- Postalischer Versand: hohe Temperaturen?
- Trocknungszeit und -bedingungen sind kritisch!



geringe Stabilität in flüssigem Blut
erhöhte Stabilität in Trockenblut

- Matrix für Kalibrierung und Qualitätskontrollproben verschieden von **echten Proben**

- Stabilität? (kein Antikoagulans, venös vs. kapilläres Blut)



keine Probleme
ohne EDTA/Citrat ?



LUDWIG-
MAXIMILIANS-
UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

Chancen für das Monitoring der Therapie mit oralen Tumortheraeutika



Microsampling bietet für das Monitoring von ambulanten Patienten einige Vorteile ...

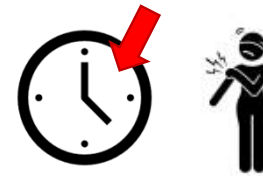
Patienten können zu Hause selbst Proben entnehmen und zum Labor schicken



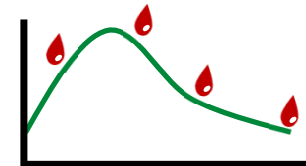
Nachhaltigkeitsaspekte: vereinfachte Lagerung/Transport, weniger Material



Proben können bei Bedarf (ad hoc) entnommen werden (z.B. Im Falle von akuten Nebenwirkungen)



Patienten können mehrere Proben sammeln
→ Pharmakometrische Auswertung



Im Rahmen von TDM **gemessene Konzentrationen mit Modellen kombinieren**, um individuelle Vorhersagen zu treffen

Bayes'scher Ansatz

→ Kombination von **pharmakokinetischen Modellen**
UND den **gemessenen Daten**

- Erhöhung der individuellen Genauigkeit
- je mehr Daten, desto besser
- eine **a posteriori-Vorhersage** machen
(bekannte Daten = Modell *und* neue Information = TDM)

→ **individuelle Dosierungsempfehlung aus TDM und Modell**
= model-informed precision dosing (MIPD)

Ein Beispiel für eine modellgestützte Vorhersage: mein Weg zur Arbeit

Modell-Vorhersage

35 min (28,4 km)

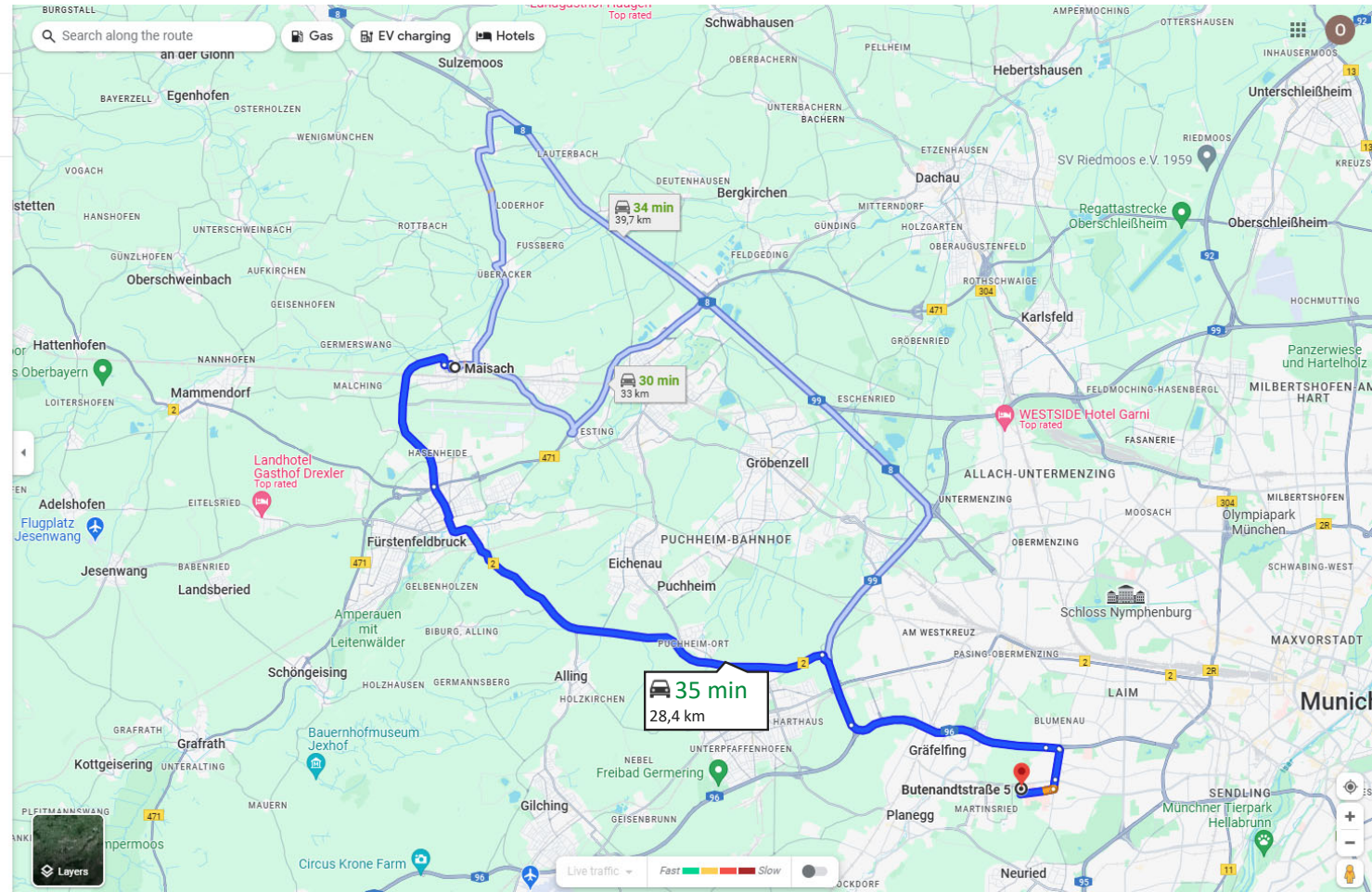
basierend auf
- Entfernung
- Durchschnittsgeschwindigkeit

← from Maisach, 82216
to Butenandtstraße 5, 81377 München
via B2

Maisach
82216

- > Follow Aufkirchner Str. to Augsburg Str./B2 in Fürstenfeldbruck
7 min (5.2 km)
- > Continue on B2. Take A96 to Waldwiesenstraße in Hadern, München. Take the exit toward München-Blumenau/München-Großhadern from A96
21 min (21.1 km)
- > Continue on Waldwiesenstraße. Take Marchioninstraße to Feodor-Lynen-Straße
5 min (2.1 km)

Butenandtstraße 5
81377 München



Ein Beispiel für eine modellgestützte Vorhersage: mein Weg zur Arbeit bei Stau

wahrscheinlichste
Ankunftszeit
basierend auf
Modell und
neuen Daten (Stau)

← from Maisach, 82216
to Butenandtstraße 5, 81377 München
via B2

75 min (28,4 km)

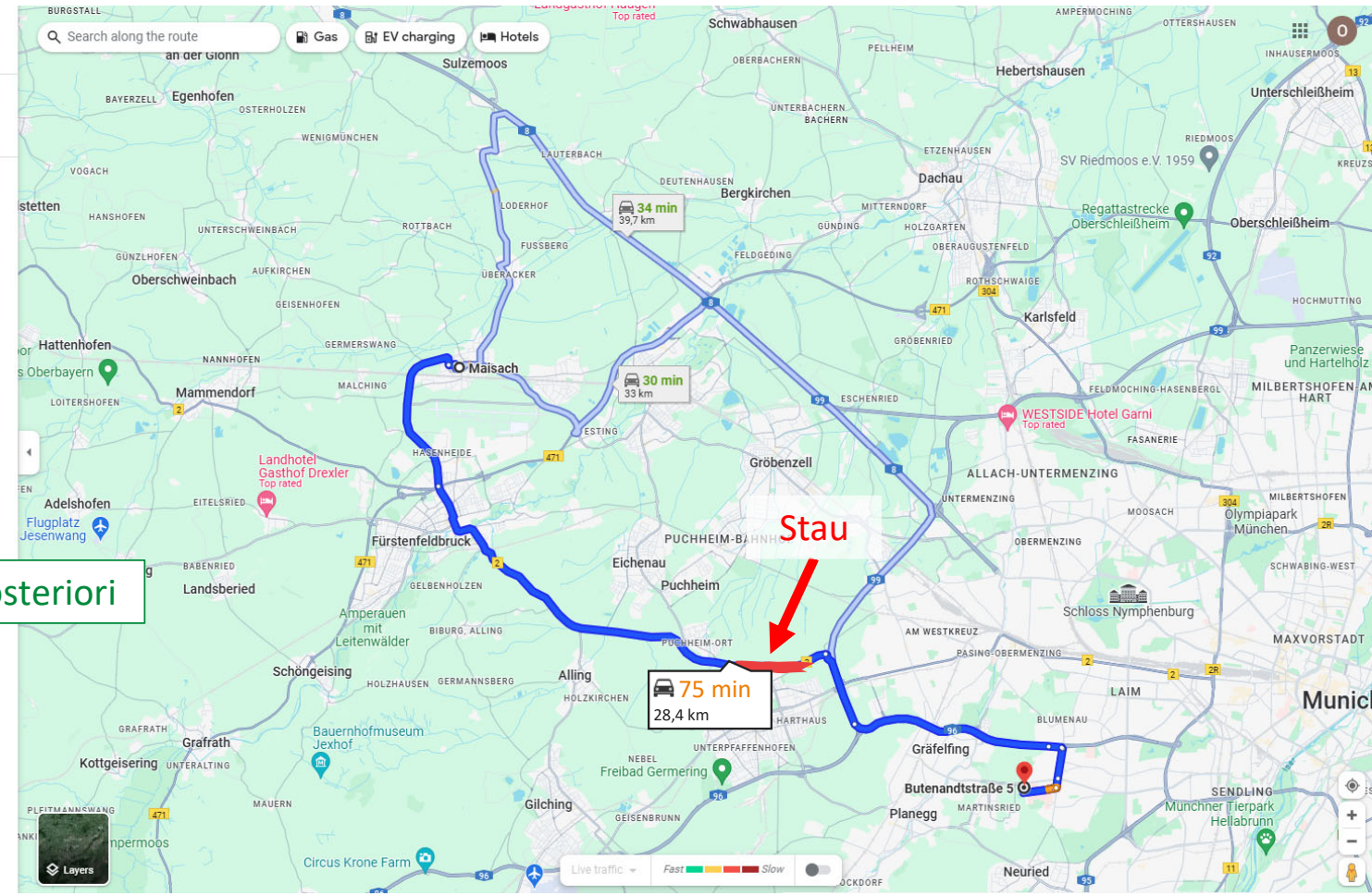
Maisach
82216

- > Follow Aufkirchner Str. to Augsburg Str./B2 in Fürstenfeldbruck
7 min (5.2 km)
- > Continue on B2. Take A96 to Waldwiesenstraße in Hadern, München. Take the exit toward München-Blumenau/München-Großhadern from A96
21 min (21.1 km)
- > Continue on Waldwiesenstraße. Take Marchioninstraße to Feodor-Lynen-Straße
5 min (2.1 km)

Butenandtstraße 5
81377 München

MAP = maximum a posteriori

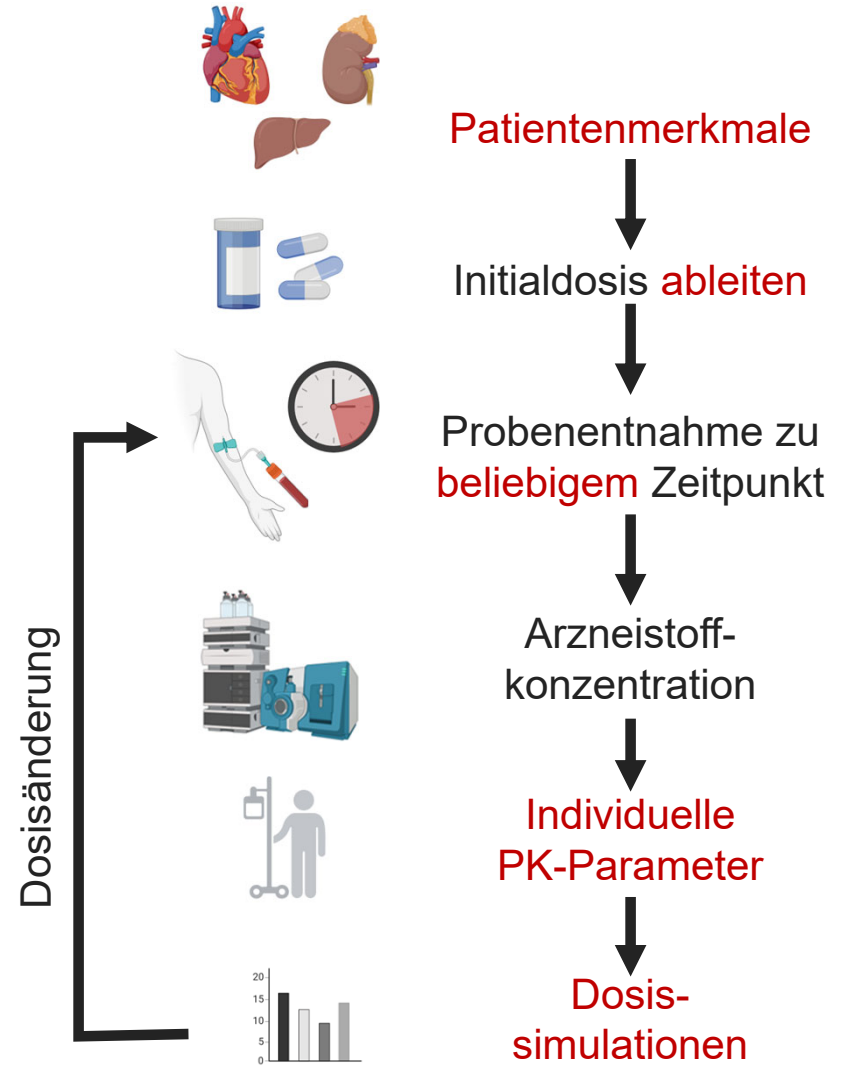
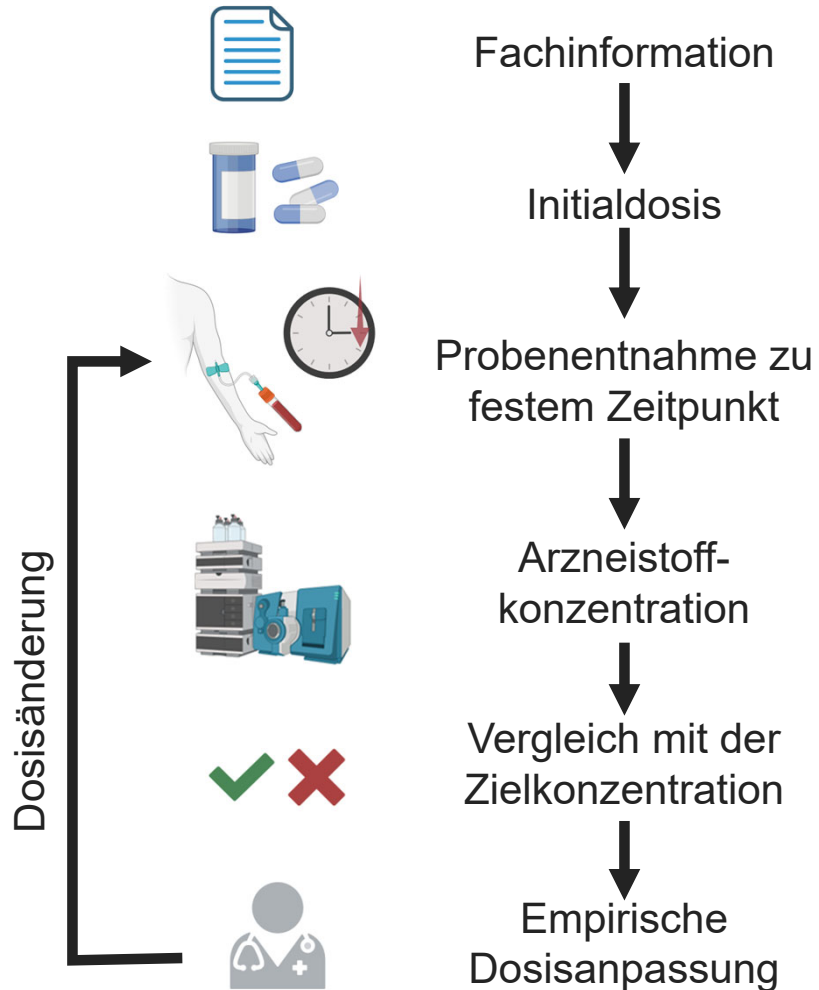
basiert auf Daten,
wie lange andere
Autofahrer im
Schnitt durch den
Stau brauchen

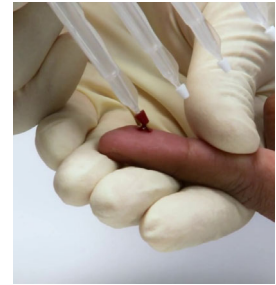


„klassisches TDM“

vs.

MIPD





MITRA® VAMS

Ein Beispiel aus unserer Arbeit

Microsampling von Proteinkinasehemmern



Microsamples bieten viele Vorteile. Welche Herausforderungen verlangsamten die Einführung von *microsampling* in der Routineversorgung?

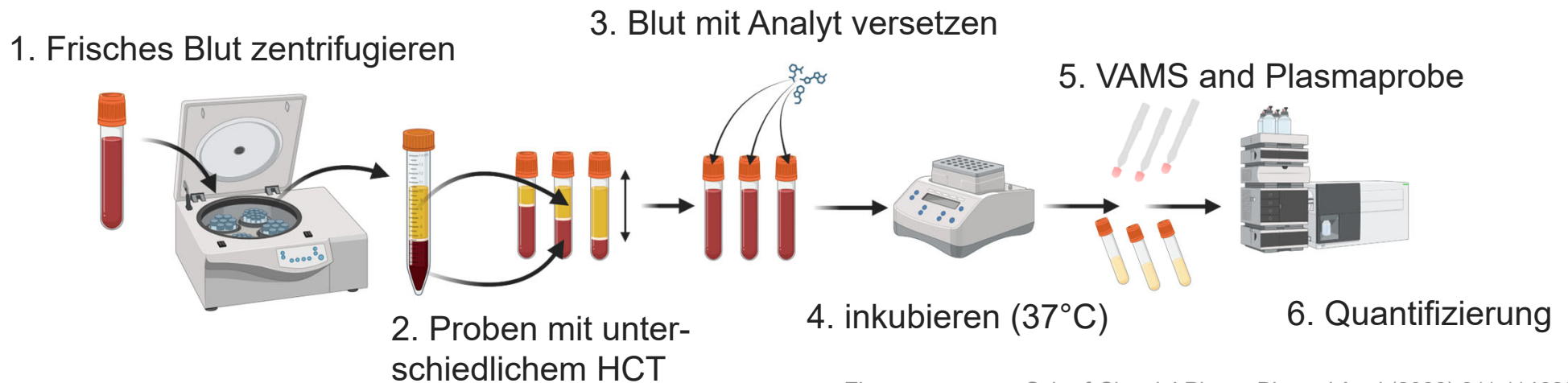
veröffentlichte Daten zu PK/PD-Zielen beziehen sich fast immer auf Plasma-/Serumkonzentration

➔ Umrechnungsfaktor von VAMS (*Microsampling*) zu Plasma/Serum nötig ! ?

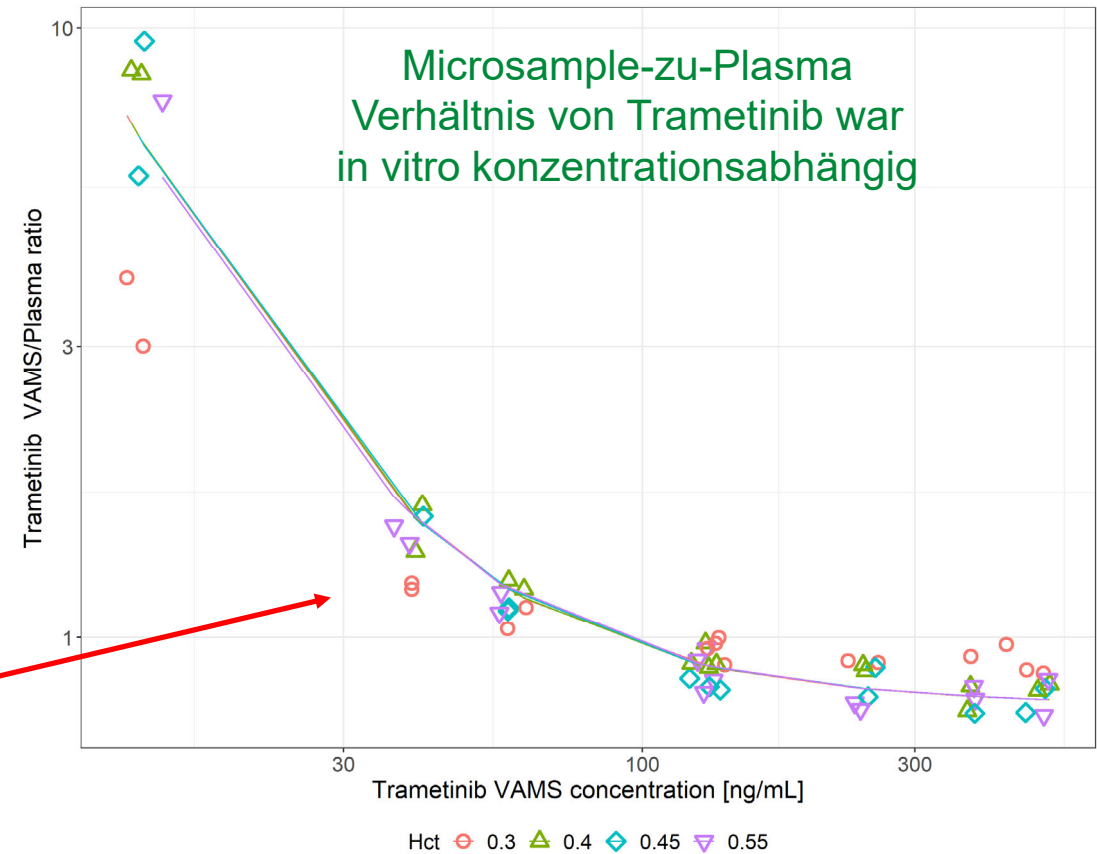
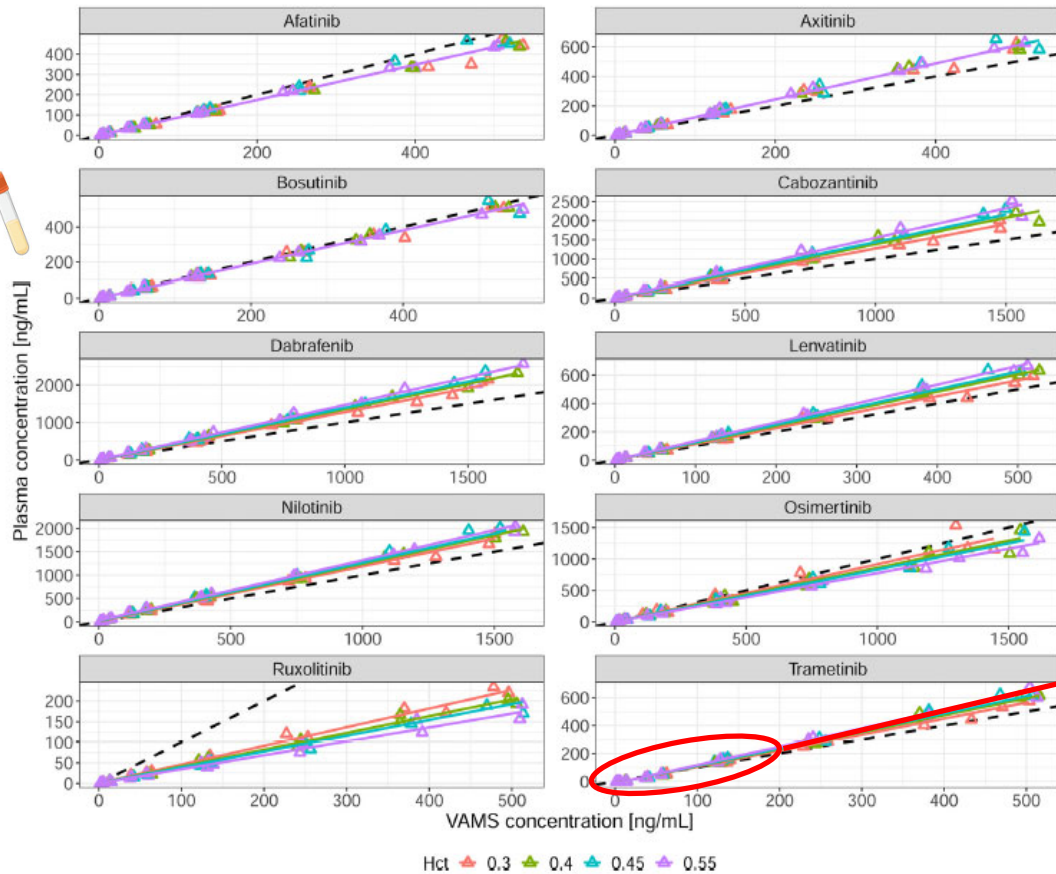
Der Faktor hängt von der Verteilung zwischen Blutzellen und Blutplasma ab

➔ für jeden Analyten einzeln zu bestimmen

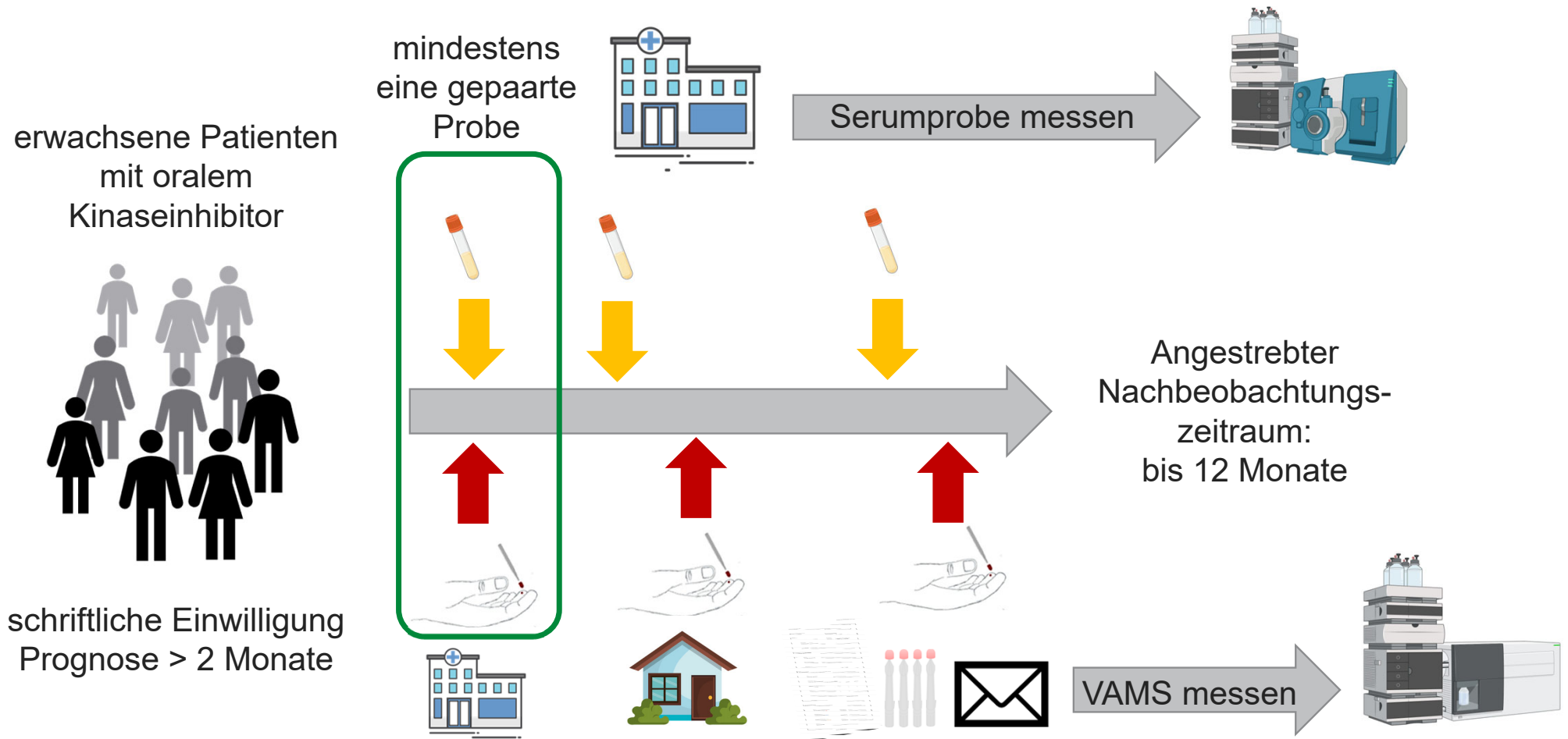
in vitro ?



In vitro Microsample-zu-Plasma Verhältnisse sind stark substanzabhängig und spiegeln leider auch nicht immer die Realität



Wir haben daher eine **Pilotstudie zum Microsampling bei oraler Tumorthherapie am Universitätsklinikum Würzburg durchgeführt**



Schulungsmaterial und Probenentnahme



Luft- und Lichtschutz

Schritt-für-Schritt-Anleitung

MITRA VAMS device

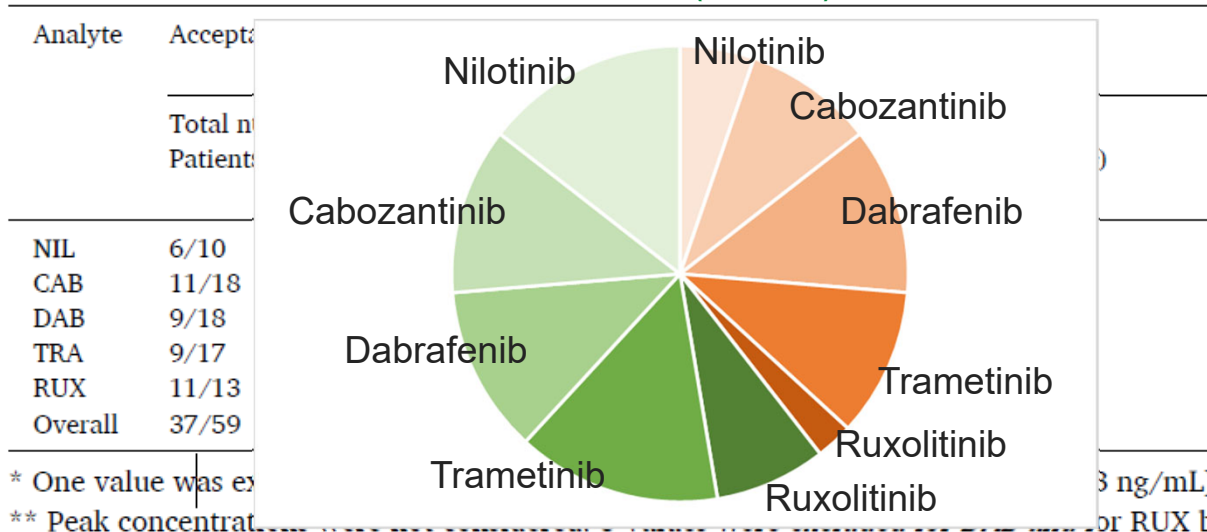
Versandbeutel

Stechhilfe,
Pflaster, etc.

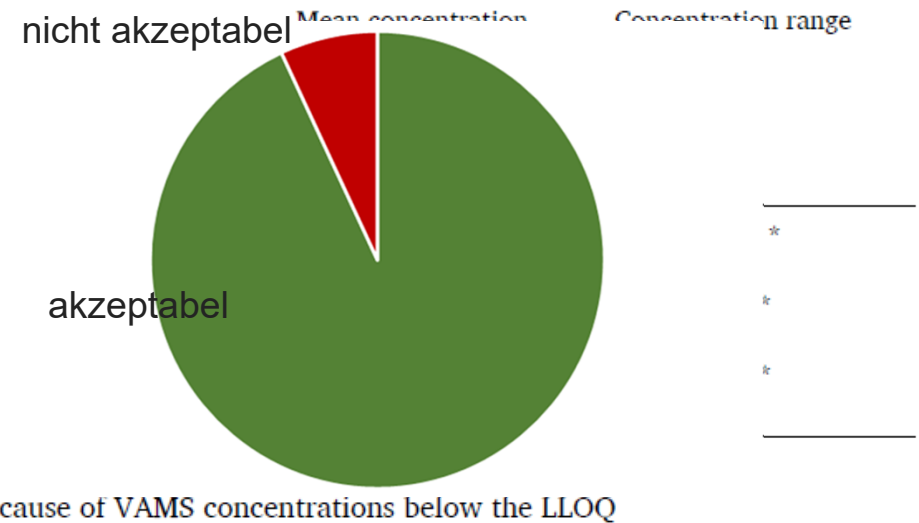
Versandkarton

Patienten können selbstständig nach Anleitung sehr erfolgreich Proben entnehmen, wenn sie es mitmachen ...

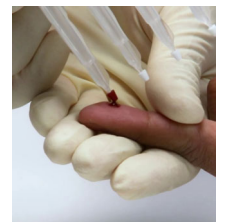
Bereitschaft am Microsampling nach Substanz (n = 59)



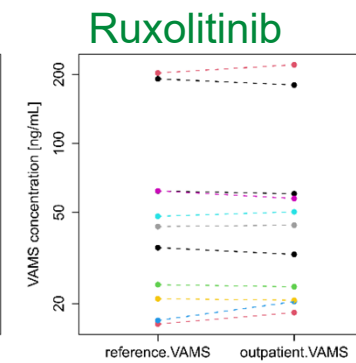
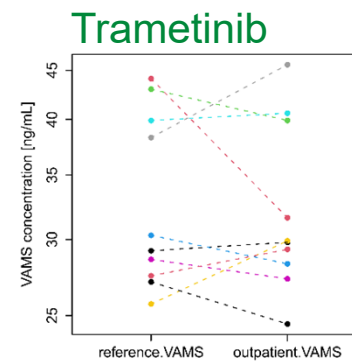
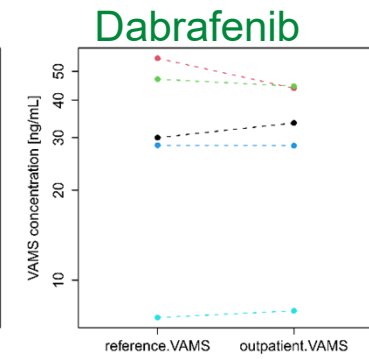
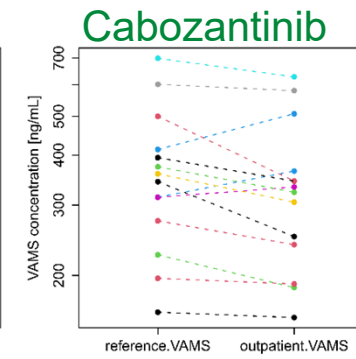
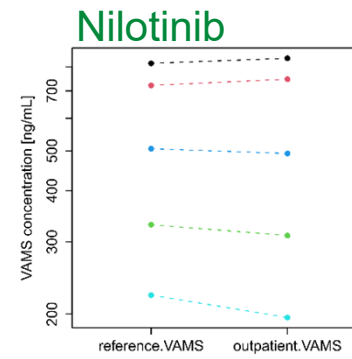
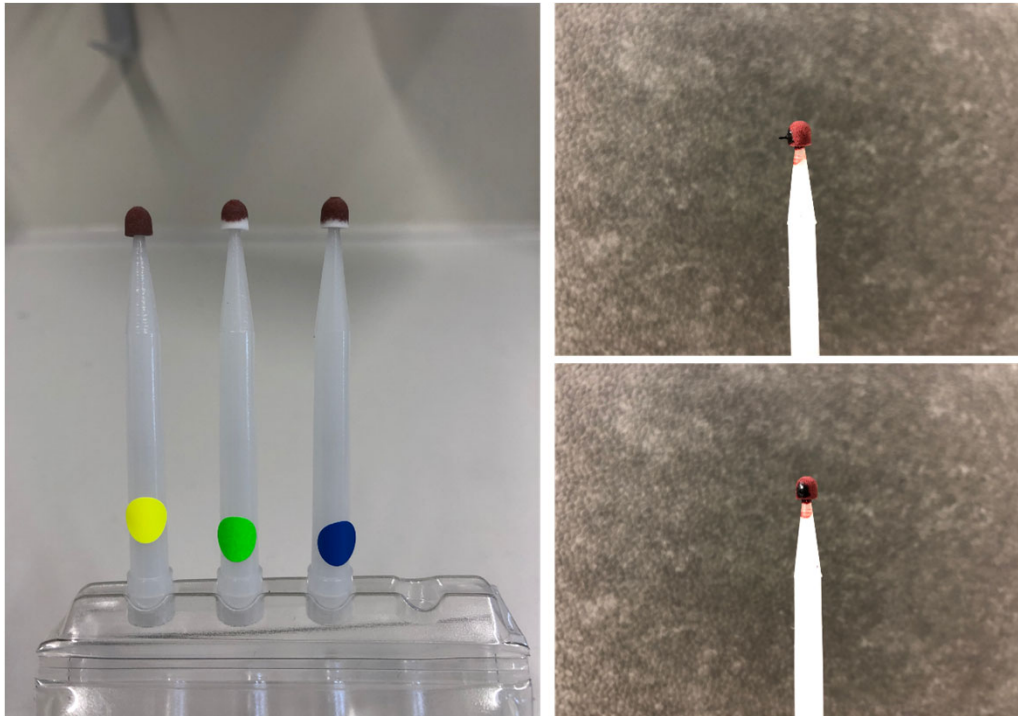
Qualität der Microsampling Proben (n = 360)



Tendeziell: jüngere Patienten machen häufiger mit
 ABER: Teilnahme hatte für die TeilnehmerInnen keinen Vorteil

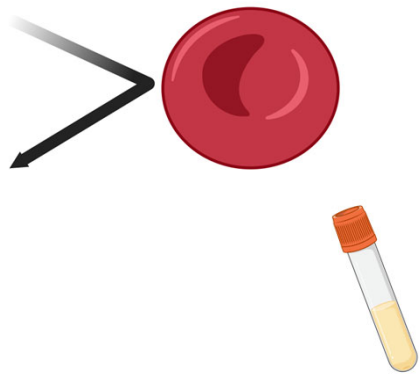


Vereinzelt können Probleme auftreten ...

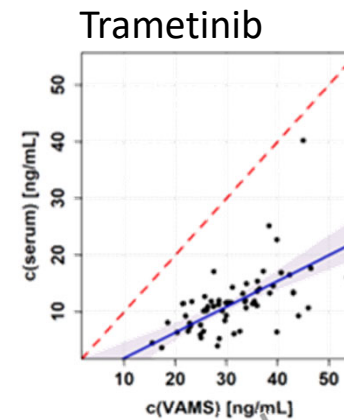
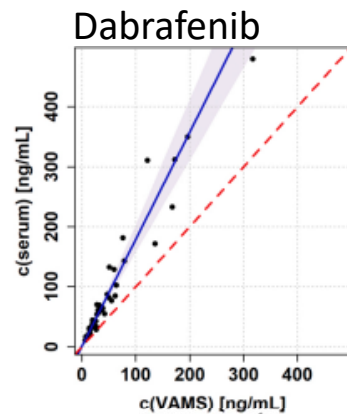


Gelingt es mit Daten aus der Pilotstudie, Microsamplekonzentrationen in Serumkonzentrationen umzurechnen?

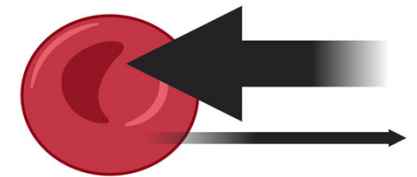
Korrelation von Trockenblut- zu Plasma-Konzentrationen durchaus unterschiedlich



Substanz verteilt sich kaum in Erythrozyten
→ Probe wird durch Erythrozyten verdünnt

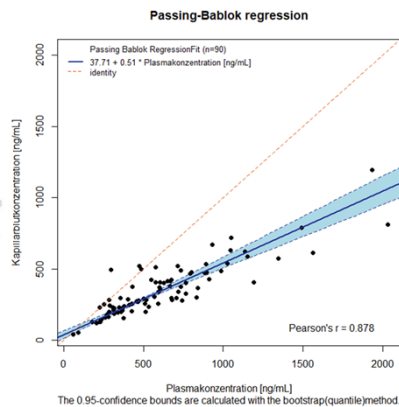


Substanz reichert sich in Erythrozyten an
→ Probe wird durch Erythrozyten aufkonzentriert



Welche Umrechnungsmethode ist für die in vivo Daten am besten geeignet?

Passing-Bablok Regression



hämatokritabhängiges Modell

$$C_{pred} = \frac{C_{micro}}{(1 - Hct) + Hct \cdot \rho \cdot f_u}$$

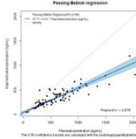
hematocrit ↑
 blood cell affinity ↑
 fraction unbound in plasma ↑

Mittleres Verhältnis Serum-zu-VAMS

$$C_{pred} = C_{micro} \cdot \frac{\sum_{k=1}^n \left(\frac{C_{Serum}^k}{C_{micro}^k} \right)}{n}$$



Welche Methode zum bestimmen des Umrechnungsfaktors ist die beste?



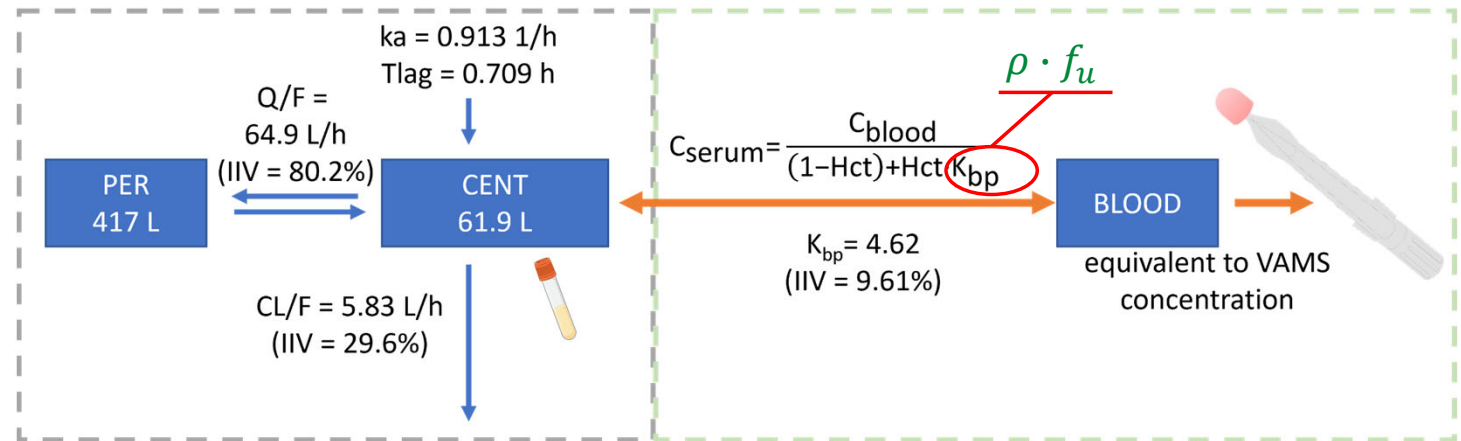
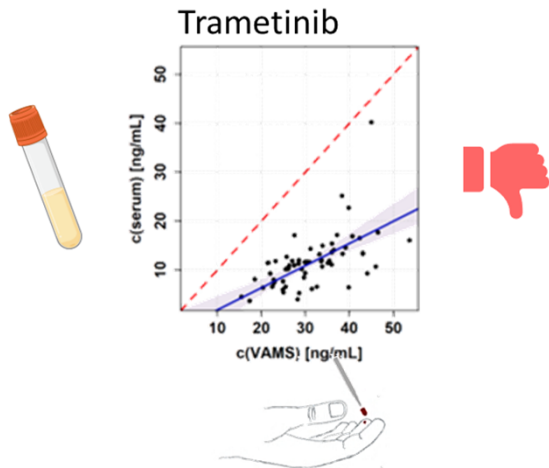
$$C_{pred} = \frac{C_{micro}}{(1 - Hct) + Hct \cdot \rho \cdot f_u}$$

$$C_{pred} = C_{micro} \cdot \frac{\sum_{k=1}^n \left(\frac{C_{serum}^k}{C_{micro}^k} \right)}{n}$$



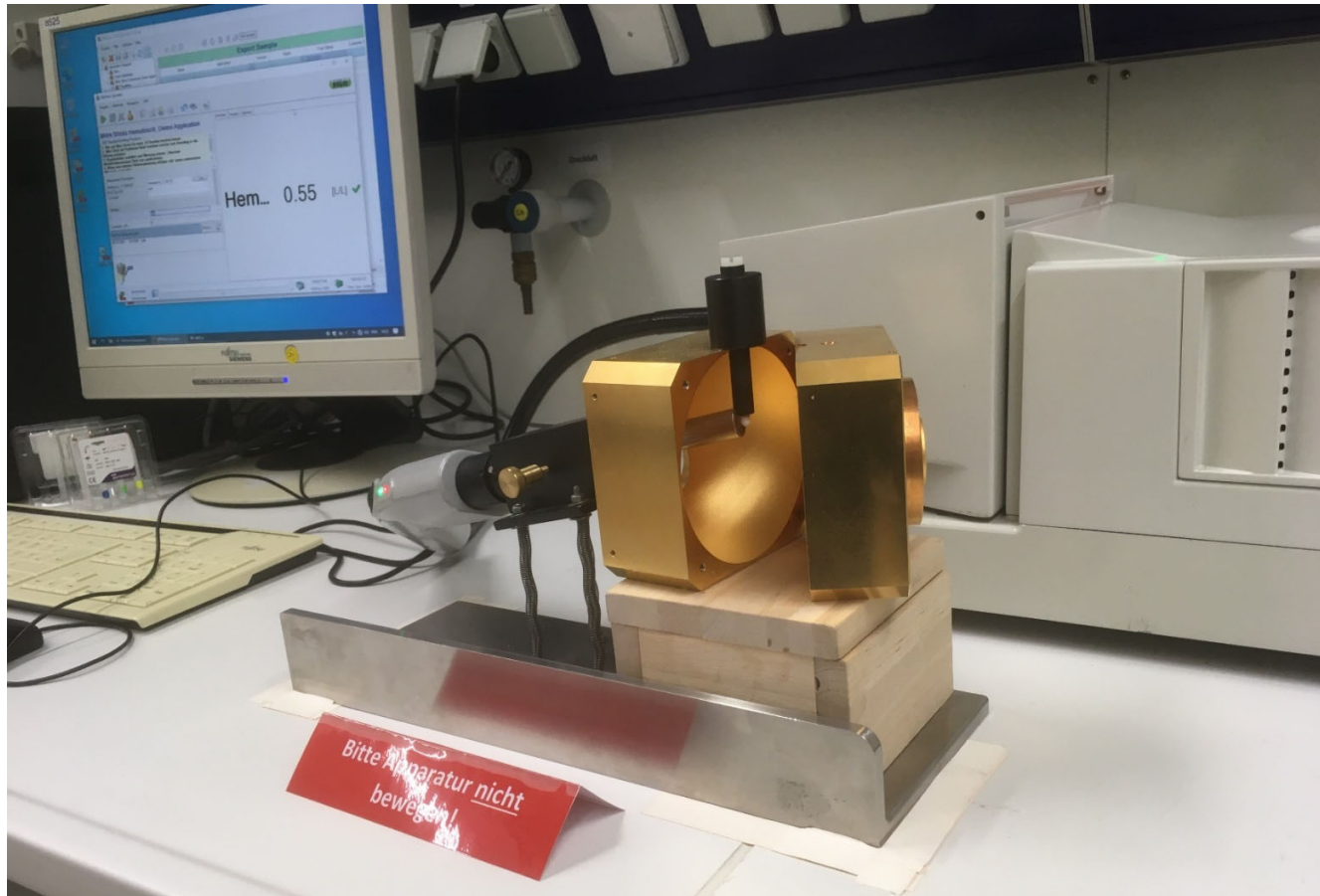
| Analyt | Probenpaare | Passing-Bablok Regression | | semi-mechanistisches Modell | | mittleres Verhältnis Serum-zu-VAMS Umrechnungsfaktor (95% KI) |
|-------------------|-------------|---------------------------|---------------|-----------------------------|----------------|---|
| | | Steigung (95% KI) | Korrelation | rho | f _u | |
| Nilotinib | 41 | 1.48 (1.25-1.64) | 0.9427 | 7.62 · 10 ⁻³ | 0.02 | 1.76 (1.69-1.87) |
| Cabozantinib | 40 | 1.85 (1.66-2.00) | 0.9627 | 8.46 · 10 ⁻⁴ | 0.003 | 1.85 (1.79-1.97) |
| Dabrafenib | 41 | 1.79 (1.54-2.12) | 0.9674 | 1.00 · 10 ⁻³ | 0.003 | 1.81 (1.69-1.92) |
| Trametinib | 63 | 0.45 (0.33-0.62) | 0.5811 | 201.5 | 0.026 | 0.37 (0.34-0.40) |
| Ruxolitinib | 45 | 0.72 (0.66-0.83) | 0.9466 | 60.2 | 0.030 | 0.74 (0.62-0.93) |

Die Integration von Microsample in pharmakokinetischen Modellen ermöglicht Bayesianen Ansatz mit Mitra VAMS



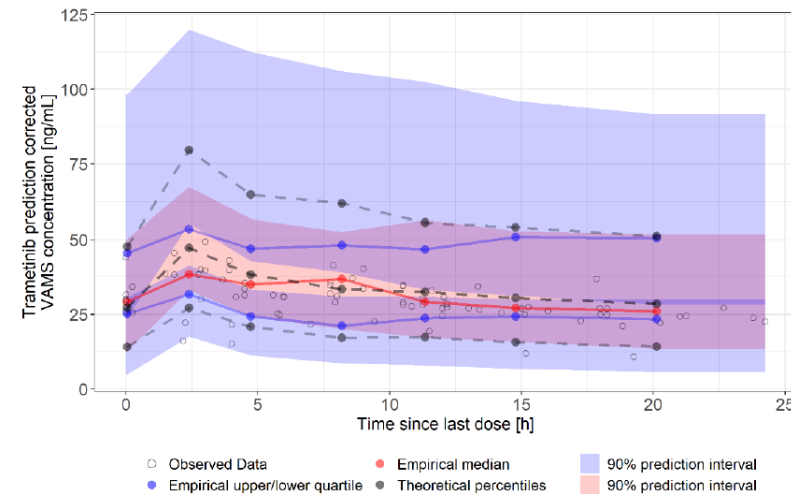
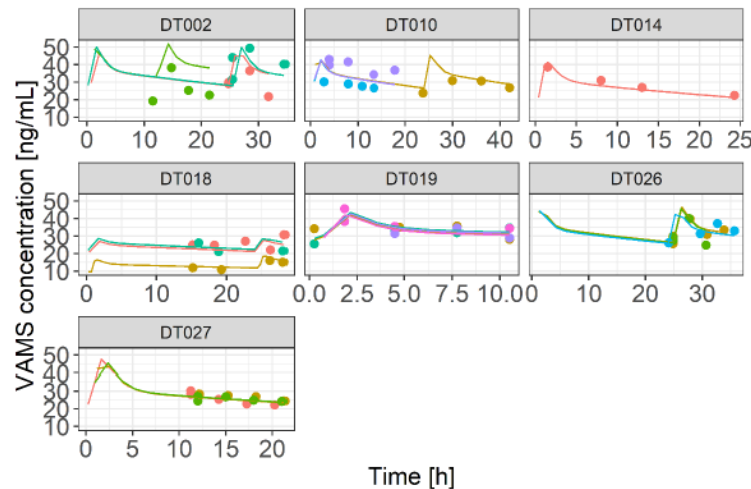
Pharmakokinetische Parameter
(AUC, Talspiegel) aus Microsampling
Proben und integriertem Modell abzuleiten

Bestimmung des Hämatokrit direkt aus dem Microsample?



Aus der Kombination **aller Daten** können individuelle PK Parameter zuverlässig abgeleitet werden

Serum- und Microsample Konzentration, Dosis, Kovariaten, Klin. Chem. Labor (z.B. HCT)



bei über 90% der Patienten, die stabil auf der Therapie sind, wird das propagierte Ziel für Trametinib von **Serum $C_{min} > 15,5$ ng/mL NICHT erreicht**

Nächster Schritt: ON-TARGET Studie



- Proof of concept für: Closed-loop MIPD bei Patienten mit fortgeschrittenem Nierenzellkarzinom mit Verwendung von Mitra VAMS
- Wirkstoffe: Axitinib und Cabozantinib bei RCC
- Studie befindet sich am Ende der aktiven Phase

Danke!



Kooperationspartner aus dem ON-TARGET Projekt

Prof. Jaehde, Prof. Kloft, Prof. Hempel, Olga Teplytska, Fenja Klima,
Dr. Anna McLaughlin, Patrick Opitz, Nadja Haas, Juliane Kubitza



Kooperationspartner aus dem Universitätsklinikum Würzburg

Prof. Hartwig Klinker, Prof. Martin Faßnacht, Prof. Matthias Kroiß, Dr. Nora Isberner

Meinen (ehemaligen) Würzburger Doktoranden

Dr. Bettina Gerner, Dr. Sebastian Zimmermann, Maximilian Stapf,
Dr. Fatemeh Aghai-Trommeschlaeger

