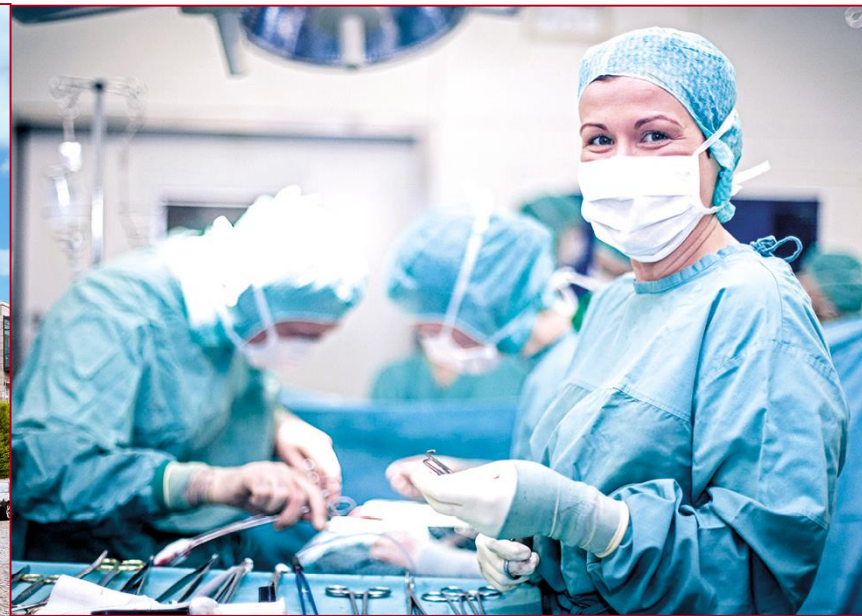


10 Jahre Daratumumab im transfusionsmedizinischen Labor

Andrea Rosner
Universitätsklinikum Carl Gustav Carus, TU Dresden



Potentielle Interessenkonflikte

Auftragsforschung für Bio-Rad und Sanofi

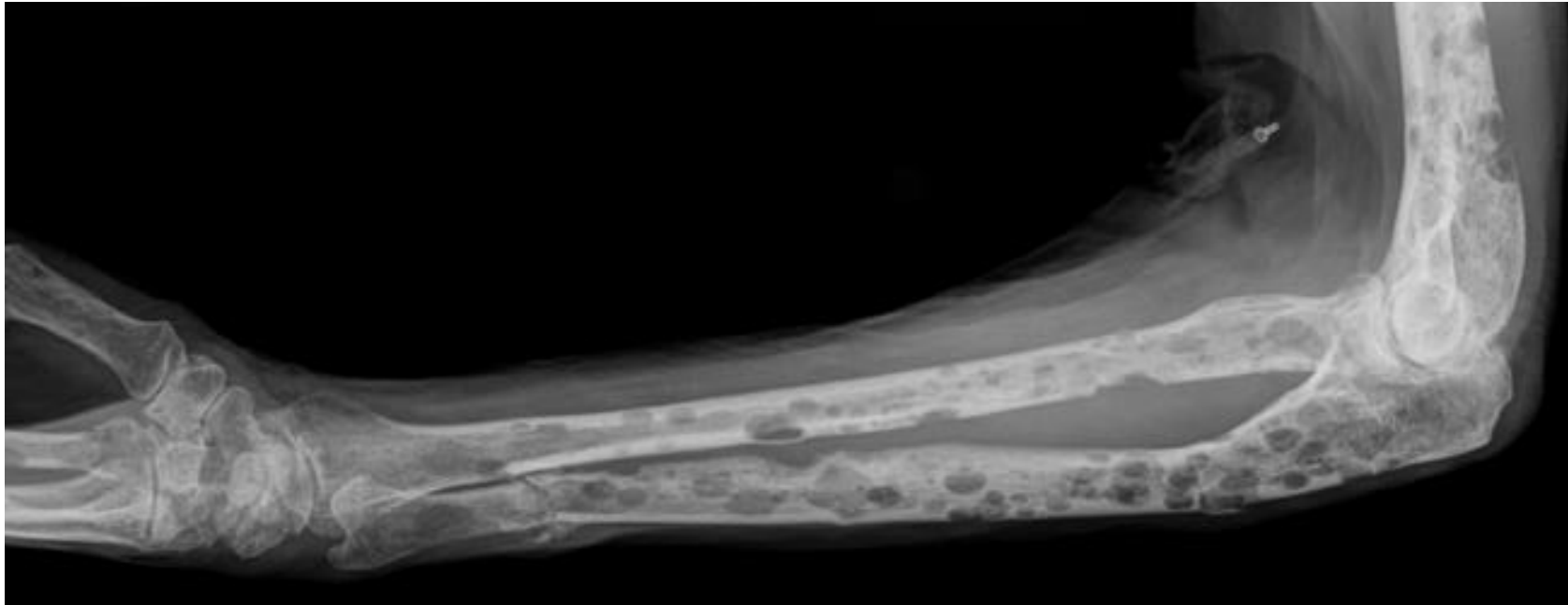
Vortragshonorar von Bio-Rad

Themen

- Multiples Myelom
- Daratumumab (DARA)
- DARA-Artefakte
- Alte und neue Lösungsansätze

Multiplles Myelom (MM)

- Plasmazell-Krebs (Non-Hodgkin-Lymphom)
- Plasmazytom = solitärer Tumor aus Plasmazellen
wenn multifokal = MM



Wikipedia

Multipl. Myelom (MM)

- 10% aller hämatologischen Krebserkrankungen (~ 1% aller Krebserkrankungen)
- Medianes Erkrankungsalter: >70 Jahre
- 5-Jahr-Überlebensrate war 2010 noch < 50%
→ verbessert auf 57% im Jahr 2020

MM – Pathogenese

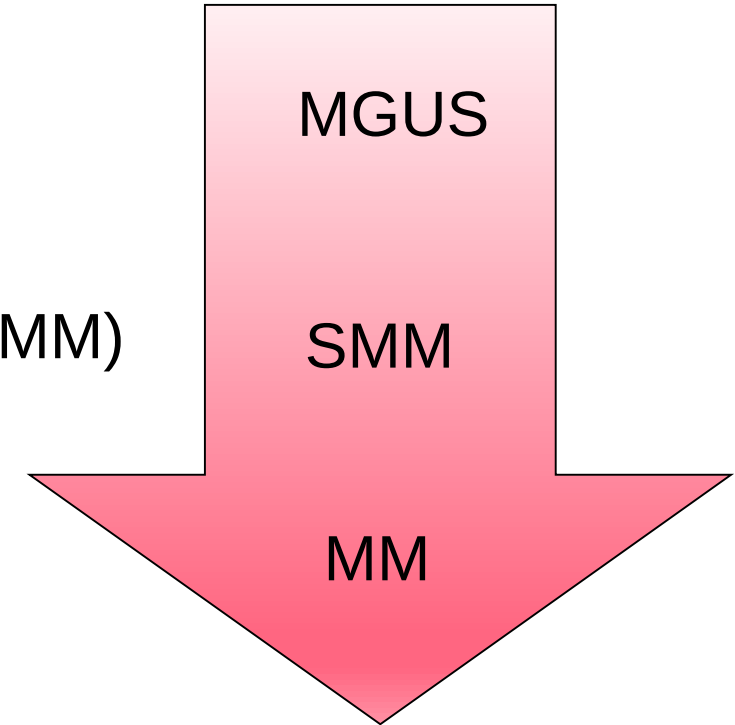
= Ergebnis einer mehrstufigen malignen Transformation:

Von der prämaligen Monoklonalen Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS)

→ prä malignes Schwelendes Multiples Myelom (SMM)

→ Aktives Multiples Myelom (MM)

(→ in 2–4% Progress zu Plasmazell-Leukämie)



MM – Pathomechanismen

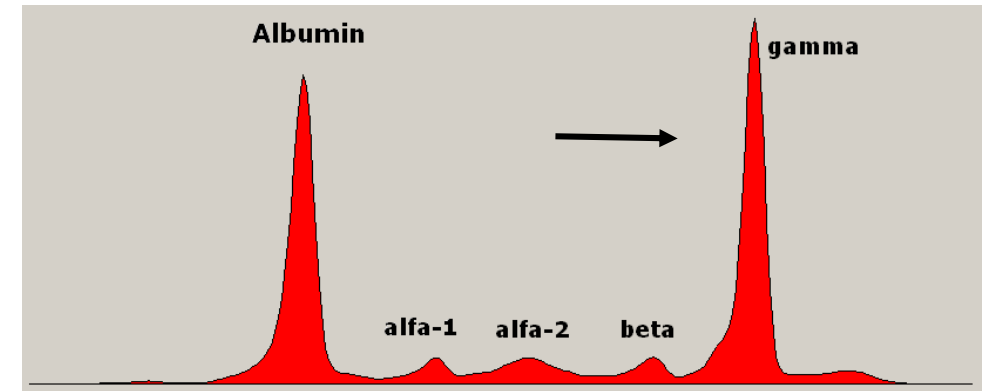
- **Abnorme Plasmazellen produzieren abnorme Antikörper**

- Monoklonale Immunglobuline
(Paraproteine in Elektrophorese)

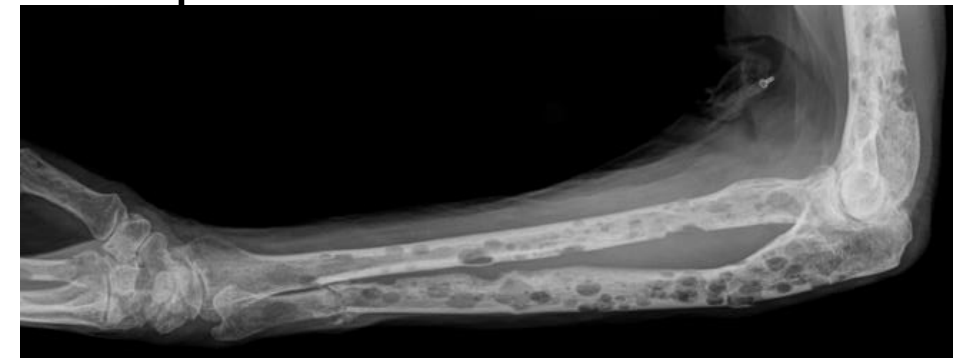
- erhöhte Serumviskosität

- Nierenversagen

- Cast-Nephropathie (Proteinzyylinder in Nierenkanälchen)
 - Leichtkettenablagerungskrankheit → Glomerulonephritis



- **Osteolysen** → Hyperkalzämie
→ Anämie and Leukopenie
→ Knochenprobleme



MM – Symptome

- Diagnose: 10 % Knochenmarkinfiltration plus 1 CRAB-Kriterium (Calcium, Renale Insuffizienz, Anämie, Bone = Knochen)

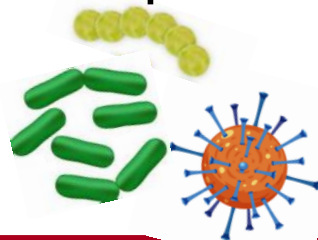
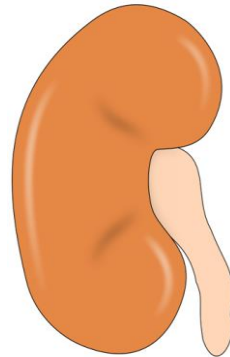
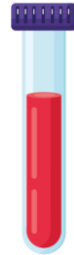
- Hyperkalzämie

- Nierenversagen

- Anämie

- Knochenschmerzen und pathologische Frakturen

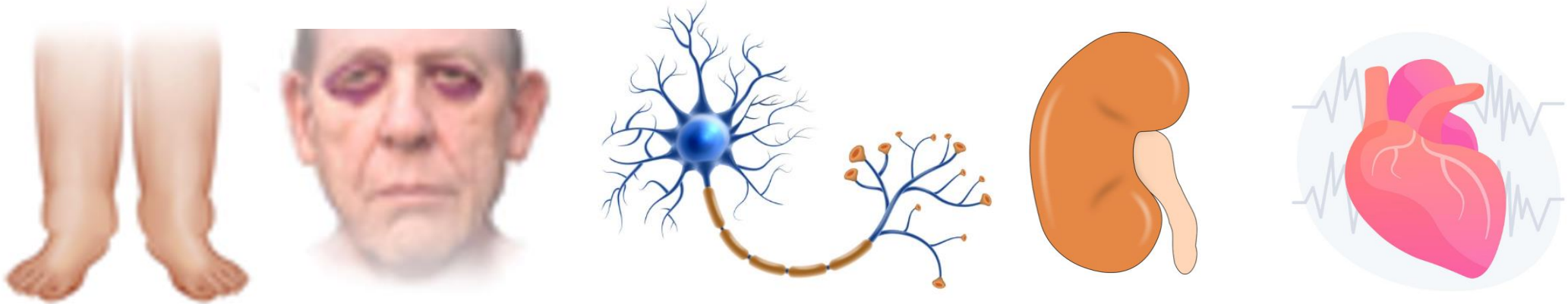
- ... und Infektionen



Freepik.com

Amyloide Leichtketten (AL) Amyloidose

- Komplikation, kann auch bei prämalignem MGUS auftreten
- fehlerhaft gefaltete, monoklonale Leichtketten bilden Amyloidablagerungen, die schwere Organschäden verursachen
- Ödeme, periorbitale Purpura, Neuropathie, Nieren- und Herzinsuffizienz



- 5-Jahres-Überleben < 50%
- Therapie: Chemotherapie / autologe Stammzelltransplantation

Wikipedia, Freepik.com

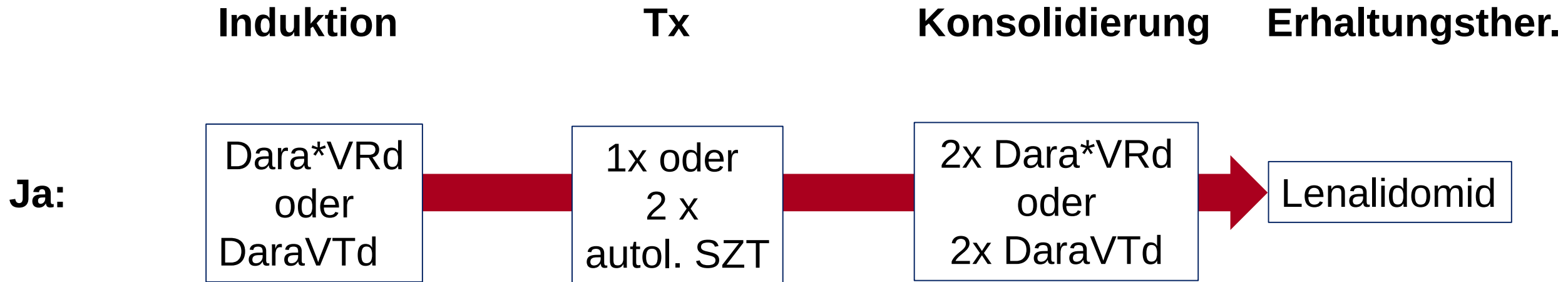
Erstlinientherapie des Multiplen Myeloms

Ist der Patient fit genug für eine hochdosierte Chemotherapie
und autologe hämatopoetische Stammzelltransplantation
(HSCT)?



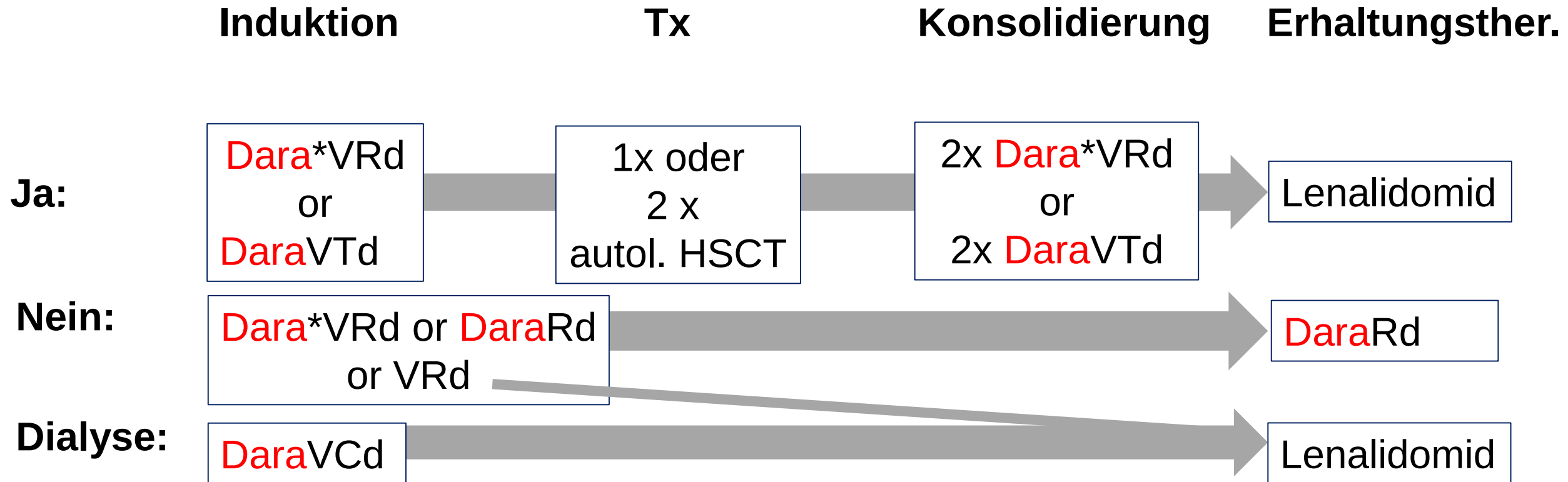
Onkopedia Leitlinie Multiples Myelom
Okt. 2024

Erstlinientherapie des Multiplen Myeloms



*od. Isatuximab V = Bortezomib (Velcade®) R = Lenalidomid (Revlimid®) d = niedrig dosiertes Dexamethason
T = Thalidomid (früher Contergan®)

Erstlinientherapie des Multiplen Myeloms



*od. Isatuximab (Anti-CD38-Therapie)

Anti-CD38-Therapie

- gegen Glykoprotein CD38 – stark exprimiert auf Plasmazellen und MM-Zellen
- CD38 ist auch auf anderen Zellen vorhanden, z.B. Erythrozyten
- 1. Medikament war Daratumumab (Darzalex®)
- Nov. 2015 US-Zulassung als Viertlinien-Therapie des MM
- Mai 2016 EMA-Zulassung (European Medicines Agency)
- 2020 Zulassung Isatuximab (Sarclisa®)
- vorauss. Felzartamab (Phase III-Studien); Mezagitamab (Phase II-Studien)

Daratumumab «off-label»

A literature review of the use of daratumumab in non-neoplastic immunologic disorders

Jennifer M. Jones¹ , Minh-Ha Tran²

¹Department of Pathology, University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA; ²Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of California, Irvine, Orange, CA, USA

Ann Blood 2024;9:33

- AL-Amyloidose
- Systemischer Lupus erythematodes
- Immunthrombozytopenie
- Posttransplantations-Autoimmunhämolyse
- Posttransplantations-Pure red cell aplasia

Daratumumab-Wirkmechanismen

- eliminiert Plasmazellen und MM-Zellen durch
 - antikörper-vermittelte zelluläre Zytotoxizität und Phagozytose
 - komplementabhängige Zytotoxizität
- hemmt Mitochondrientransfer von benachbarten nichtmalignen Knochenmark-Stromazellen

DARA Dosierung & Nebenwirkungen

- 1 x / Woche (Wochen 1 - 8)
- 1 x / 14 Tage (Monate 3 - 6)
- 1 x / 28 Tage ($> \frac{1}{2}$ Jahr)



nicht in täglicher
Medikationsliste!

Nebenwirkungen

- Infusionsreaktionen (in 50% bei 1. Gabe, mild bis schwer)
- Verstärkt Thrombozytopenie und Neutropenie → Infektionsneigung

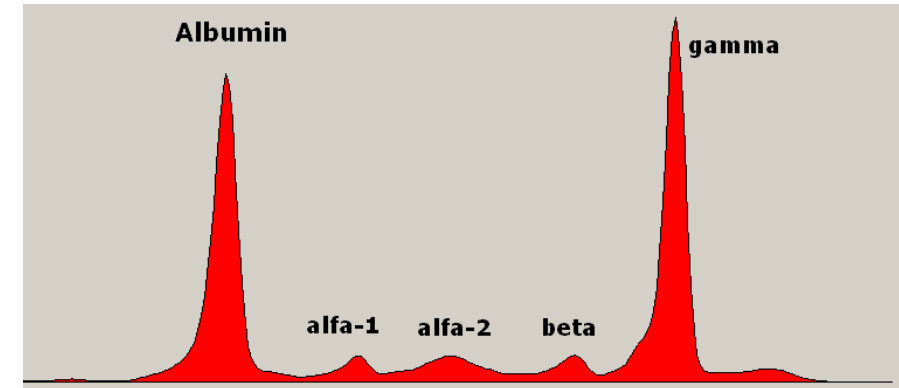
DARA-Laborartefakte

■ Elektrophorese

DARA = humaner monoklonaler IgG1_K Antikörper

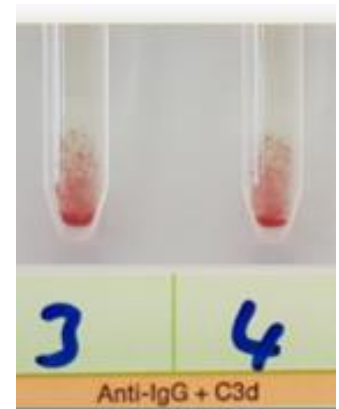
→ falsch-positiver M-Gradient bei Verlaufskontrollen

für MM-Patienten mit IgG_K-Klon



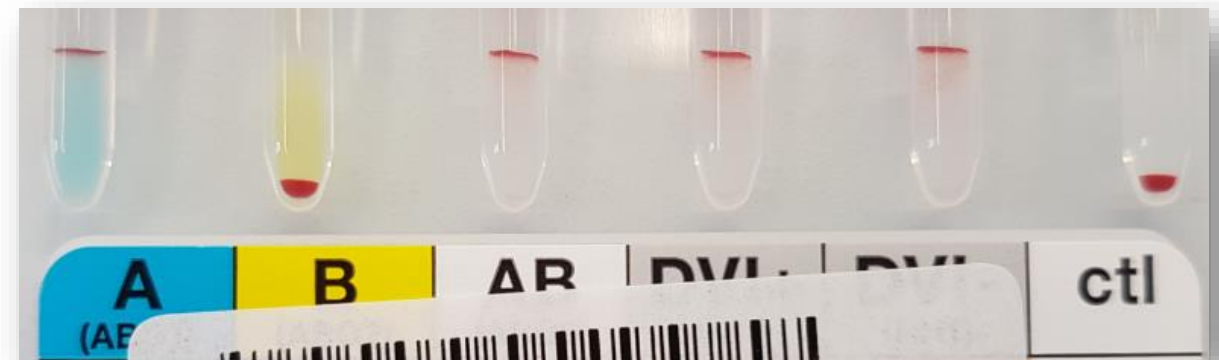
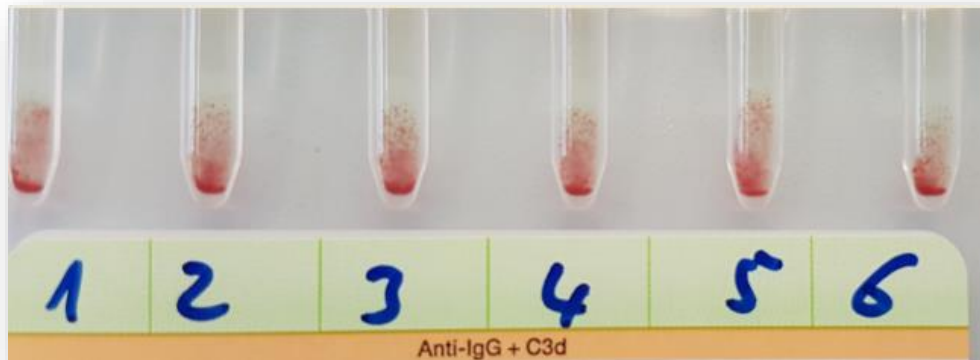
■ Transfusionsmedizin

CD38 auf Erys → Panreaktivität im IAT, wenn Plasma DARA enthält



DARA-Artefakte

- DARA stört Antikörper-Suchtests, -Differenzierung und KP
 - Erstens scheint nichts verträglich
 - und zweites werden möglicherweise vorhandene Alloantikörper maskiert



- DARA behindert **nicht** die ABD-Bestimmung

Erste Lösungen gegen DARA-Artefakte

- Enzymbehandlung von Testzellen (Papain oder Trypsin)
 - zerstört einige Antigene (Duffy, MNS, Xg)
 - 0.2 mol/l Dithiothreitol (DTT)-Behandlung von Testzellen
 - zerstört Kell, DO, IN, LU, YT, LW, JMH, und KN
- ... und war **langsam!**

Resolving the daratumumab interference with blood compatibility testing

Claudia I. Chapuy,¹ Rachel T. Nicholson,¹ Maria D. Aguad,¹ Bjoern Chapuy,² Jacob P. Laubach,² Paul G. Richardson,² Parul Doshi,³ and Richard M. Kaufman¹

Transfusion. 2015 Jun;55(6 Pt 2):1545-54.

Weiterentwicklungen der DTT-Protokolle

- **Osaka-Methode** (Röhrchentest): 0.01 M DTT
(*Hosokawa et al. Transfusion. 2018;58:3003–13*)
- **Valencia-Methode** (Gelzentrifugation):
25 µl 0.04 M DTT to 50 µl RBC direct in Gelkarte 15 min 37°C
keine Denaturierung von Kell, Lu, Yt, JMH
(*Izaguirre et al. Blood Transfus 2020; 18: 290-4*)

Erste Empfehlungen

Deutsche Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie (DGTI)
Sektion V: Immunhämatologie und Immungenetik



Empfehlung zum Vorgehen bei serologischen Störungen durch den therapeutischen monoklonalen Antikörper Daratumumab (Darzalex®)

01.07.2016

- DTT-Protokoll für AKS und KP
- Rh-Formel-, K- und **Kp^a** - kompatibel versorgen, **NHP**
- oder: “eine über die Rhesusformel und Kell hinausgehende antigenkompatible Versorgung“ (nicht näher spezifiziert)

Erste Erfahrungen

- DARA reagiert mit vielen oder allen Testerythrozyten
- Reaktiv bis zu 6 Monate nach letzter Gabe
- Weniger reaktiv in Capture[®] Methode
- Nicht reaktiv mit I-negativen Erythrozyten (diagnostisch hilfreich)
- Nicht reaktiv mit papainisierten Erythrozyten
- Isatuximab (Sarclisa[®]) ist weniger reaktiv als DARA

Weitere Optionen & Fragen

- Direkter Antiglobulintest (DAT) normalerweise negativ
(CD38-Expression wird unter DARA-Therapie unterdrückt)
→ Erys von DARA-Patienten als Testzellen?
- Oder I-negative Nabelschnurblut-Zellen oder Lu a-b- Zellen?
- Können DARA-Patienten überhaupt immunisiert werden?

Alloimmunisierungsrisiko unter DARA

- Theoretisch eher gering
 - Zunächst KEINE neuen Alloantikörper unter DARA-Therapie seit 2016
 - 2024: 1 Patient mit *de novo* Alloantikörper (Anti-Lu^a) (von >300 Patienten)
 - inzwischen >450 DARA-Patienten - immer noch nur 1 Patient (0,2%)
6 Patienten mit vorbestehenden Allo- oder Autoantikörpern
- Wohl auch praktisch kein hohes Risiko für Alloimmunisierung unter DARA

US-Studie

Received: 14 December 2020 | Revised: 16 June 2021 | Accepted: 14 September 2021
DOI: 10.1111/trf.16687

ORIGINAL RESEARCH

TRANSFUSION

Antibody incidence and red blood cell transfusions in patients on daratumumab

Craig Tauscher  | Sheila Moldenhauer | Sandra Bryant | Margaret DiGuardo | Eapen K. Jacob

- 244 DARA-Patienten
- Konservenauswahl: K-Eks für K- Patienten
- 40% keine Transfusion
- Inzidenz neuer Alloantikörper nach Transfusion ~4% nicht erhöht im Vergleich zu anderen Häma-Patienten
- “extended match” vielleicht nicht nötig

TABLE 3 RBC transfusions post-Dara

RBC transfusions	Dara patients (n = 244)
0	99 (40.6%)
1	36 (14.8%)
2	27 (11.1%)
3–5	26 (10.7%)
6–9	28 (11.5%)
10+	28 (11.5%)

Britische Studie

- Rhesusformel- und Kell-kompatibel
- 4 Monate retrospektiv
- 734 Daratumumab-Patienten
- 46 % transfundiert mit ~ 2.8 EK
- 4 % hatten vorbestehende Auto/Allo-AK
- 3 Patienten entwickelten neue Allo-Ak
= 0.4% der DARA-Patienten

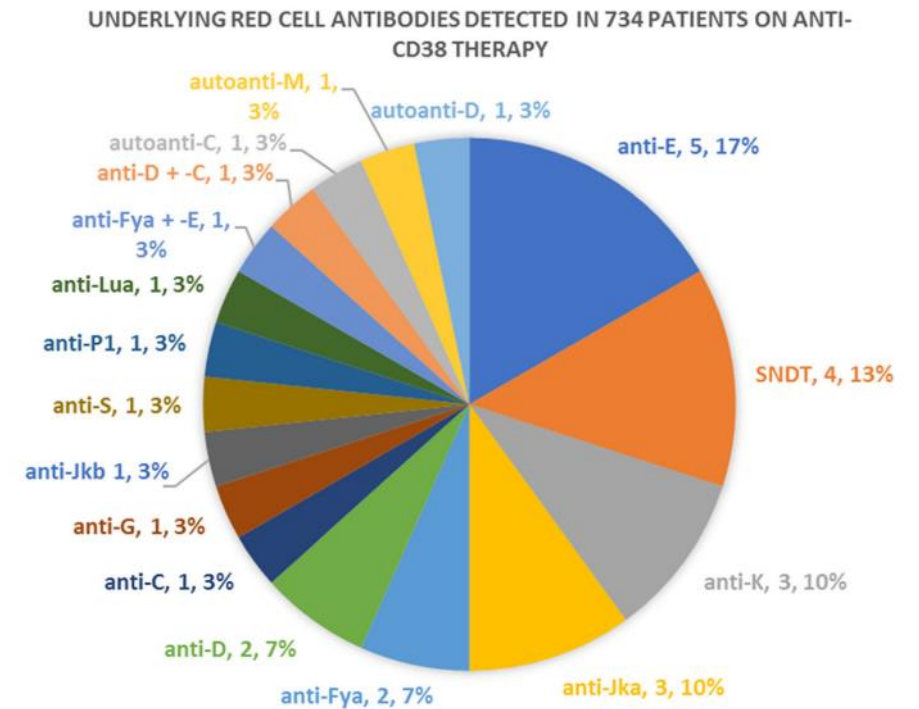
Received: 22 April 2021 | Accepted: 7 August 2021
DOI: 10.1111/tme.12808

ORIGINAL ARTICLE

TRANSFUSION
MEDICINE WILEY

Alloimmunisation rate of patients on Daratumumab: A retrospective cohort study of patients in England

Tom Bullock¹ | Amie Foster² | Bryony Clinkard³



2019er Empfehlungen

Deutsche Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie (DGTI)
Sektion V: Immunhämatologie und Immungenetik



Empfehlung zum Vorgehen bei serologischen Störungen durch den therapeutischen monoklonalen Antikörper Daratumumab (Darzalex®)

01.07.2016 **01.07.2019**

- DTT-Protokoll für AKS und KP & Rh-Formel-, K- und Kp^a -kompatibel versorgen
 - oder: “extended match” (Kidd, Duffy)
- oder: neue Labormethoden (Maskierung von erythrozytären CD38- Antigenen
oder DARA-Blockade im Plasma)

Dresdner Erfahrungen mit DaraEx

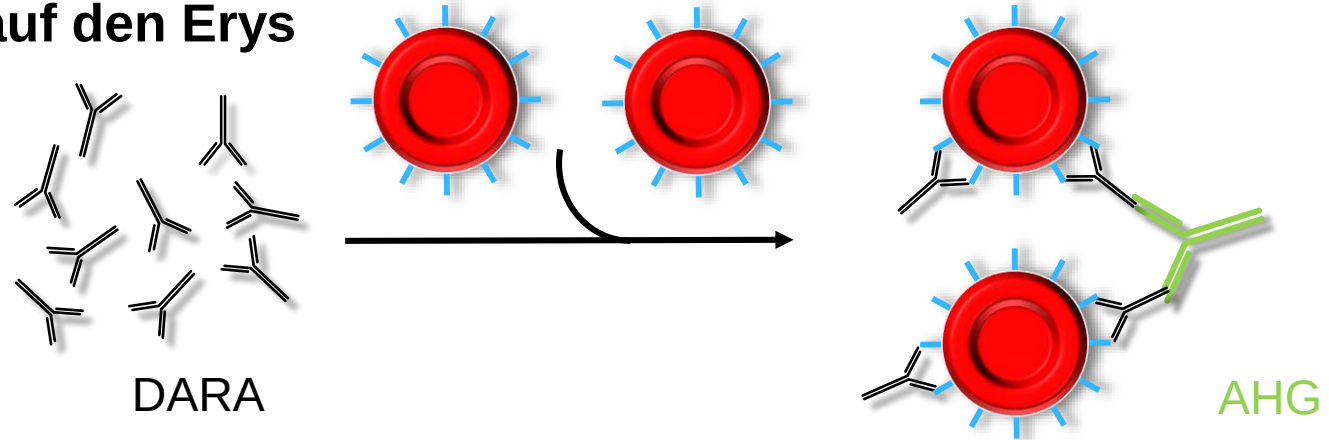
- DaraEx seit 2018 routinemäßig für DARA- (und Isatuximab-) Patienten
- Etliche Protokolländerungen
- QK 10 µl pro Test-Erys (50µl 0.8%)
- Expressprotokoll 10 µl pro 50µl 0.8% Test-Erys **oder**
- Alternativprotokoll 25 µl pro 25 µl 1.6% Test-Erys
- +** besser and viel schneller als DTT
- teuer; unspezifische Reaktionen in 28% der Patienten (titerabhängig)

Neue Methoden

- Maskierung des CD38-Antigens auf den Erys

- **DaraEx (imusyn)**

- **D-Rex (BAG Diagnostics)**



- Blockade der therapeutischen Anti-CD38-Ak im Plasma/Serum der Patienten

- **DaraClear (BIO-RAD)**

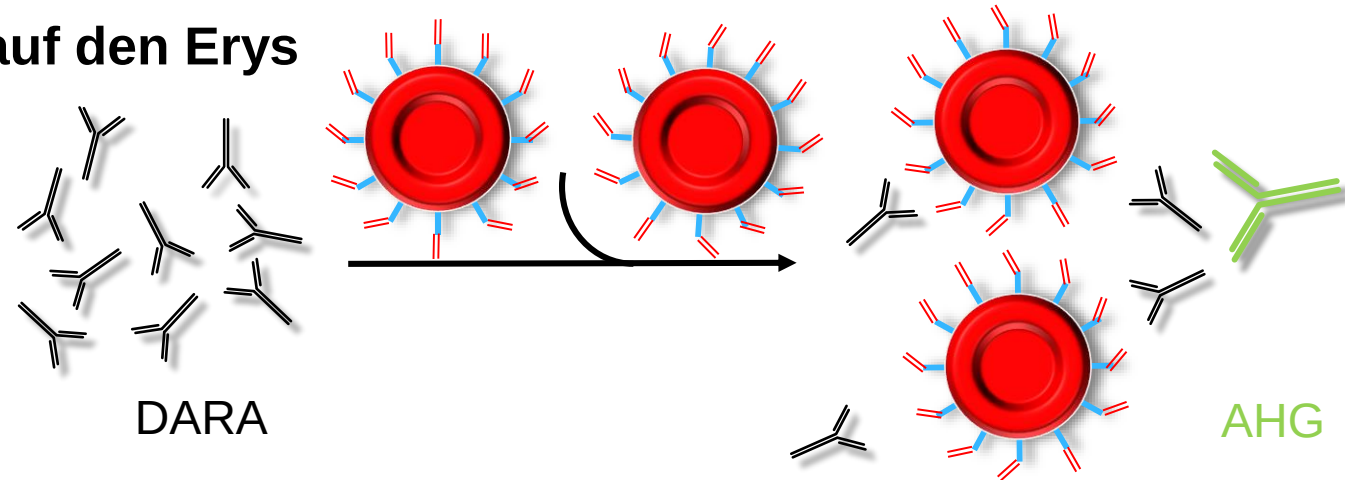
- **sCD38 (Grifols)**

Neue Methoden

- Maskierung des CD38-Antigens auf den Erys

- **DaraEx (imusyn)**
(Fab Anti-CD38)

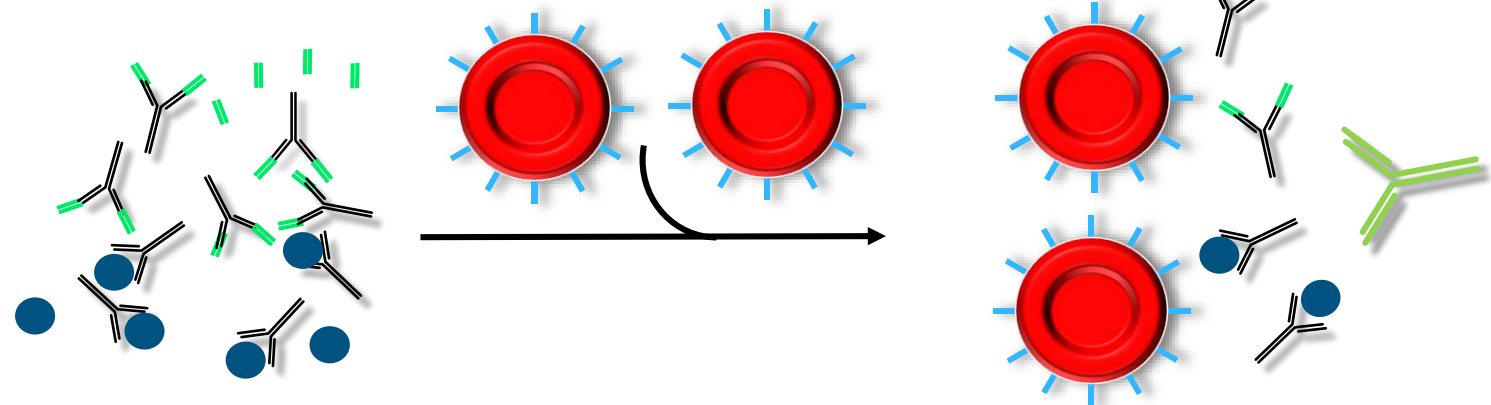
- **D-Rex (BAG Diagnostics)**



- Blockade der therapeutischen Anti-CD38-Ak im Plasma/Serum der Patienten

- **DaraClear (BIO-RAD)**
(Fab Anti-DARA)

- **sCD38 (Grifols)**
(lösliches CD38)



Neue Methoden

- Maskierung des CD38-Antigens auf den Erys

- **DaraEx (imusyn)** Fab-Fragment eines Anti-CD38-Ak

- 10µl (oder 25µl) zu Erys
 - kein Einspülen
 - kein extra Inkubation
 - keine Störung der Nachweisbarkeit von Allo-Ak

- **D-Rex (BAG Diagnostics)**

- 4µl (oder 5µl) zu Erys
 - **Einspülen nötig**
 - **2 min** Extra-Inkubation RT
 - keine Störung AK-Nachweis

Wirkstoff	DaraEx (plus)	D-Rex
µl	10µl (oder 25µl) zu Erys	4µl (oder 5µl) zu Erys
Einspülen	unnötig ✓	Ja
Inkubation	unnötig ✓	2 min
Störung AK	keine ✓	keine ✓

Neue Methoden

- Blockade der therapeutischen Anti-CD38-Ak im Plasma/Serum der Patienten
 - **DaraClear (BIO-RAD)** Fab-Fragment eines Anti-Daratumumab-Ak (wirkt nicht Isatuximab!)
 - 10% (oder 30%) zu 25µl Plasma
 - kein Einspülen
 - kein extra Inkubation
 - keine Störung der Nachweisbarkeit von Allo-Ak
 - **sCD38 (Grifols)** lösliches CD38-Antigen
 - 2µl (oder 6µl) zu 25µl Plasma
 - Einspülen nötig
 - **15 min** Extra-Inkubation bei 37°C,
 - zerstört z.T. Duffy-Antigene

Wirkstoff	DaraClear	sCD38
	Nur DARA!	
µl	10% (oder 30%) zu Plasma	2 (oder 6) zu Plasma
Einspülen	unnötig ✓	Ja
Inkubation	unnötig ✓	15min
Störung AK	keine ✓	Ja, Anti-Fy

Neue Methoden

Wirkstoff	DaraEx (plus)	D-Rex (z.Zt. nicht verfügbar)	DaraClear Nur DARA!	sCD38
µl	10 (oder 25) zu Erys	4 (oder 5) zu Erys	10% (oder 30%) zu Plasma	2 (oder 6) zu Plasma
Einspülen	unnötig ✓	Ja	unnötig ✓	Ja
Inkubation	unnötig ✓	2min	unnötig ✓	15min
Störung AK	keine ✓	Nein	keine ✓	Ja, Anti-Fy

Zusammenfassung

- DARA verbessert die Überlebenschancen von Patienten mit Multiplem Myelom
- DARA ist im Labor inzwischen beherrschbar...
...aber bessere, bezahlbare Methoden sind nach wie vor wünschenswert.

DARA ist ein gutes Beispiel, wie wir an Herausforderungen wachsen.

A person with short blonde hair and glasses, wearing a grey long-sleeved shirt and black pants, is sitting on a large, flat, grey rock. They are looking out over a vast, hazy landscape of rolling hills and dense green and brown forest. The sky is a pale blue with soft, white clouds. The overall atmosphere is peaceful and contemplative.

Vielen Dank für die Aufmerksamkeit!

Fragen?