

Gebaseerd op de registratievoordracht van O. Breukels.

LITERATUUR

- 1 Punt CJA. Medicamenteuze behandeling van patiënten met colorectumcarcinoom. *Ned Tijdschr Geneesk* 2005;149:1441-7.
- 2 Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004;350(23):2335-42.
- 3 Jain RK. Normalizing tumor vasculature with anti-angiogenic therapy: a new paradigm for combination therapy. *Nat Med* 2001;7(9):987-9.
- 4 Willett CG, Boucher Y, di Tomaso E, et al. Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivascular effects in human rectal cancer. *Nat Med* 2004;10(2):145-7.
- 5 Tyagi P, Grothey A. Commentary on a phase III trial of bevacizumab plus XELOX or FOLFOX for first-line treatment of metastatic colorectal cancer: the NO 16966 trial. *Clin Colorectal Cancer* 2006;6(4):261-4.
- 6 Saltz LB, Clarke S, Díaz-Rubio E, et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III trial. *J Clin Oncol* 2008;26(12):2013-9.
- 7 Hochster HS, Hart LL, Ramanathan RK, et al. Safety and efficacy of oxaliplatin and fluoropyrimidine regimens with or without bevacizumab as first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results of the TREE Study. *J Clin Oncol* 2008;26(21):3523-9.
- 8 Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:205-16.
- 9 Cao Y, Tan A, Gao F, et al. A meta-analysis of randomized controlled trials comparing chemotherapy plus bevacizumab with chemotherapy alone in metastatic colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2009;24(6):677-85.
- 10 Steenhoek A. Nieuwe geneesmiddelen ... Kunnen ze er nog wel bij? [oratie]. Rotterdam: Erasmus MC; 2005.
- 11 Delwel GO. Leidraad voor uitkomstenonderzoek 'ten behoeve van de beoordeling doelmatigheid intramurale geneesmiddelen'. Diemen: College voor zorgverzekeringen; 2008.

NEDERLANDS FARMACEUTISCH ONDERZOEK IN DE INTERNATIONALE LITERATUUR

Aanvullende methoden naast gelpermeatiechromatografie voor bepaling van aggregaten in therapeutische eiwitproducten

Suzanne Vink-Hermeling

Hoeveelheid, grootte en type van aggregaten in therapeutische eiwitproducten verdienen bijzondere aandacht van producenten en autoriteiten. Het zijn belangrijke kwaliteitsaspecten omdat aggregaten allerlei bijwerkingen kunnen geven, van irritatie op de injectieplaats tot immunogeniteit. Aggregaten van eiwitmoleculen worden gezien als afbraakproducten en kunnen variëren in grootte (van dimeren tot zichtbare deeltjes) en type (chemisch of fysisch gebonden). Aggregatie kan optreden bij iedere stap van het productieproces, en ook tijdens vervoer en bewaring en zelfs bij toediening aan de patiënt.

Al kunnen bijwerkingen door aggregaten niet voorspeld worden, hun hoeveelheid, grootte en type zijn daarbij wel van invloed. Het is dan ook belangrijk ze goed te karakteriseren en te kwantificeren. In de biotechnologische industrie is momenteel gelpermeatiechromatografie (GPC) de belangrijkste methode hiervoor. Hoewel GPC belangrijke voordelen heeft, kunnen toch inaccurate resultaten voorkomen, bijvoorbeeld door adsorptie aan kolommateriaal, verdunning van het monster, inductie van aggregaten door (schuif)spanningen, enzovoort. Hierdoor kunnen belangrijke verschillen in aggregatiepatronen tijdens procesontwikkeling en opschaling onopgemerkt blijven en bestaat de kans dat patiënten die de handelsproducten toegediend krijgen, aan een ander aggregatiepatroon worden blootgesteld dan de patiënten in de klinische studies.

Om zeker te zijn dat GPC accurate resultaten geeft, is daarnaast altijd een aanvullende methode nodig. Veel biotechnologische bedrijven gebruiken de analytische ultracentrifuge (AUC) voor de optimalisatie van de GPC. Een belangrijk voordeel van de AUC is dat er geen monstervoorbewerking nodig is: het eiwitproduct wordt

onverdund in een centrifugebuisje gestopt. Een groot nadeel is dat ervaren analisten nodig zijn om de gegevens te interpreteren. Andere methoden die wel gebruikt worden zijn *flow field flow fractionation* (FFFF) of lichtverstrooiing. Beide worden echter niet routinematig gebruikt voor controle van GPC.

Verder is van groot belang dat de massabalans van op het GPC-systeem geïnjecteerd eiwit gecontroleerd wordt. Bij monsters die spanning hebben doorstaan, moet getest worden of de gebruikte GPC-methode de monsters adequaat analyseert. Er moeten nieuwe kolommaterialen ontwikkeld worden om adsorptie van eiwit aan de kolom te verminderen. Het zou de ontwikkeling van nieuwe methoden ten goede komen als er een standaard zou zijn met bekende aggregaatconcentratie en aggregaatgrootte. Verder geven de auteurs aan dat het belangrijk is dat de industrie gegevens publiceert over de ontwikkeling van nieuwe methoden, inclusief een database met negatieve resultaten, zodat het wiel niet door iedereen uitgevonden hoeft te worden. Maar zelfs als de AUC- en FFFF-methoden geoptimaliseerd worden, is de kans klein dat ze de GPC zullen verslaan als routinetest voor vrijgifte in de industrie.

Tot slot is het belang evident van goede communicatie tussen academici, industrie en autoriteiten om een *best practice* te ontwikkelen voor analyse van eiwitaggregaten.

Carpenter JF, Randolph TW, Jiskoot W, Crommelin DJ, Middaugh CR, Winter G. Potential inaccurate quantitation and sizing of protein aggregates by size exclusion chromatography: Essential need to use orthogonal methods to assure the quality of therapeutic protein products. *J Pharm Sci.* 2009 Nov 16. [Epub ahead of print]