

**Fachbereich Informatik
Freie Universität Berlin**

Seminar: Der künstliche Mensch

**Dozenten: Raúl Rojas, Gerald Friedland
WS 2005/2006**

Ausarbeitung zum Referat 'Künstliches Blut'

Referenten: Marco Kranz, Marian Sliwa

Was ist Blut?

Blut wird aus medizinischer Sicht als flüssiges Organ bezeichnet. Es dient im menschlichen Organismus als ein Verbindungsglied zwischen allen Teilen des Körpers, indem es verschiedenste Transportfunktionen übernimmt. Dazu zählt nicht nur der Transport aller Arten von für die andere Organe lebenswichtigen Stoffen, wie Nährstoffen oder insbesondere auch von Sauerstoff, sondern ebenso auch die Beförderung der verschiedenen Abwehrzellen des Immunsystems.

Der menschliche Körper besitzt im Normalfall ca. 4-6 Liter Blut(ca. 7-8% des Körpergewichts). Dieses besteht zu etwa 55% aus Blutplasma(welches wiederum zu ca. 90% aus Wasser besteht, die restlichen Bestandteile sind Salze und Proteine) und zu ca. 45% aus den Blutzellen.

Bei Blutzellen unterscheidet man zwischen Erythrozyten(roten Blutkörperchen), Leukozyten (weissen Blutkörperchen) und Thrombozyten(Blutplättchen).

Mit 4-5 Millionen pro Kubikmikroliter Blut stellen die Erythrozyten deutlich die Mehrzahl aller Blutzellen. Sie sind mit Hilfe des in ihnen enthaltenen Hämoglobins vor allem für den Transport von Sauerstoff und Kohlenmonoxid zuständig.

Jedes rote Blutkörperchen enthält ca. 280 Millionen Hämoglobinmoleküle. Ein Hämoglobinmolekül besitzt vier sogenannte Hämgruppen, welche jeweils ein Sauerstoffatom binden können. Die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins verändert sich in Abhängigkeit von Ph-Wert und anderen äusseren Einflüssen der jeweiligen Körperregion, und ermöglicht so die Aufnahme von Sauerstoff in der Lunge und die spätere Abgabe an andere Zellen.

Leukozyten kommen mit etwa 6000-8000 pro Kubikmikroliter Blut vor. Sie übernehmen die Aufgabe der allgemeinen und spezifischen Immunabwehr.

Die Thrombozyten(ca. 200000 pro Kubikmikroliter Blut) spielen eine entscheidende Rolle bei der Blutgerinnung.

Was ist künstliches Blut?

„To begin, it should be clarified that the term “artificial blood” is really a misnomer. The complexity of blood is far too great to allow for absolute duplication in a laboratory.“ *Lesley Kresie, MD, Department of Pathology, Baylor University, Nov. 2000*

Dieses Zitat macht deutlich, daß es bei der Entwicklung von künstlichem Blut nicht darum geht, eine in allen Belangen gleichwertige Alternative zu echtem Blut zu entwickeln. Dies ist vor allem auf Grund der enormen Komplexität des menschlichen Immunsystems bisher noch nicht denkbar. Stattdessen konzentriert man sich darauf, Produkte zu entwickeln, die nur einzelne wichtige Eigenschaften des Blutes aufweisen. Dabei geht es vor allem um künstliche Sauerstoffträger und in geringerem Umfang um künstliche Thrombozyten.

Die größte Bedeutung bei der Entwicklung künstlicher Blutbestandteile fällt den alternativen Sauerstoffträgern zu.

Bei alternativen Sauerstoffträgern unterscheidet man zwischen hämoglobinbasierenden Ersatzstoffen(Hämoglobin based oxygen carriers, kurz HBOCs) und synthetischen Ersatzstoffen (Perfluorcarbon Emulsions, kurz PFCEs).

Die HBOCs lassen sich wiederum in drei Kategorien unterteilen, je nachdem, aus welcher Quelle das eingesetzte Hämoglobin stammt.

Menschliches Hämoglobin

Menschliches Hämoglobin für die Verwendung in Blutersatzstoffen wird hauptsächlich aus abgelaufenen Blutspenden gewonnen.

Der Vorteil menschlichen Hämoglobins liegt darin, dass es an die Bedürfnisse des menschlichen Körpers angepasst ist. Ein klarer Nachteil ist die Tatsache, dass es aus Blutspenden gewonnen werden muss, deren Vorrat ohnehin schon knapp ist, weshalb das Hämoglobin in diesem Fall aus Blutkonserven gewonnen wird, deren Haltbarkeitsdatum überschritten ist. Ausserdem besteht wie auch bei der Versorgung eines Patienten mit herkömmlichen Blutspenden die Gefahr der Übertragung von Krankheiten wie AIDS oder Hepatitis.

Tierisches Hämoglobin

Tierisches Hämoglobin wird momentan hauptsächlich aus Rinderblut gewonnen. Es gibt jedoch inzwischen auch erste Forschungsergebnisse mit extrazellulärem Hämoglobin aus Anneliden (Meereswürmern), welches auf Grund seiner Beschaffenheit besser für Blutersatzstoffe geeignet sein könnte.

Vorteil der Verwendung von tierischem Hämoglobin ist die wesentlich größere Verfügbarkeit. Allerdings besteht auch bei tierischem Hämoglobin die Gefahr der Übertragung von Krankheitserregern.

Gentechnisch modifiziertes Hämoglobin

Durch die rasche Entwicklung der Gentechnologie können mittlerweile die ersten Versuche unternommen werden, gentechnisch verändertes Hämoglobin zu erzeugen. Dabei werden Bakterienstämme wie E.Coli oder Hefe gentechnisch so verändert, das sie Hämoglobin produzieren, welches nach Möglichkeit bessere chemische Eigenschaften als natürliches Hb aufweist.

Ein entscheidender Vorteil hierbei dürfte die Tatsache sein, das sich die Eigenschaften des Hämoglobins auf gentechnischem Wege fast nach Belieben verändern lassen.

Dieser Zweig der Entwicklung steckt jedoch noch in den Kinderschuhen.

Synthetische Ersatzstoffe (PFCEs)

Seit den sechziger Jahren wird an einer Möglichkeit gearbeitet, die von Hämoglobin komplett unabhängig ist, den so genannten *PFCEs*.

Synthetische Ersatzstoffe bieten eine Reihe von Vorteilen. Sie sind in der Lage, in etwa doppelt so viel Sauerstoff zu transportieren wie normales Blut, und weisen zudem eine geringere Sauerstoffaffinität als freies Hämoglobin auf, was die Abgabe des Sauerstoffs an andere Zellen erleichtert. Die Herstellung von *PFCEs* ist vergleichsweise einfach und liefert eine Ausbeute von nahezu 100% des Ausgangsmaterials. Sie lassen sich bei Zimmertemperatur bis zu zwei Jahre lagern, und durch die Möglichkeit der Anwendung von Verfahren wie Pasteurisation lässt sich das Risiko der Verunreinigung durch Krankheitserreger und Keime minimieren.

Ein bedeutender Nachteil der *PFCEs* ist die Tatsache, daß die Perfluorcarbonmoleküle nicht wasserlöslich sind. Um den Einsatz im menschlichen Blut dennoch möglich zu machen, muss das Perfluorcarbon als Emulsion verabreicht werden. Dazu wird es bei der Herstellung mit Hilfe eines Emulgators mit einer Salzlösung gemischt.

Ein weiteres Problem ist die Tatsache, das *PFC* als synthetischer Stoff vom Körper nicht abgebaut werden kann. Es wird zwar nach relativ kurzer Zeit aus dem Blutkreislauf ausgeschieden, kann danach aber noch bis zu zwei Jahre im menschlichen Organismus verbleiben.

Freies Hämoglobin ist keine Lösung

Die ersten Versuche mit extrazellulärem Hämoglobin zur Behandlung von Anämie fanden bereits 1916 statt. Diese verliefen jedoch äusserst negativ, die Injektion löste starke Vergiftungserscheinungen in den Nieren aus. Später stellte sich heraus, daß diese Vergiftungserscheinungen dadurch ausgelöst wurden, daß das Hämoglobin nicht restlos von Zellrückständen befreit wurde. Diese Zellreste waren es, welche die Vergiftungserscheinungen auslösten. 1978(Savitsky) gab es einen weiteren bedeutenden Versuch mit freiem Hämoglobin. Inzwischen war es zwar gelungen, das Hämoglobin vollständig von Zellresten zu befreien, jedoch zeigten sich nun neue Probleme.

Es zeigte sich nun, das freies Hämoglobin durch seine zu geringe Grösse zu schnell über die Nieren aus dem Blutkreislauf ausgeschieden wurde. Zudem erwies sich das Tetramermolekül des Hämoglobins im Blut als nicht stabil, daß heisst es neigt dazu, im Blut in zwei einzelne Dimere zu zerfallen, was dazu führt, daß seine Sauerstofftransportfähigkeit abnimmt. Ausserdem stieg die Sauerstoffaffinität des freien Hämoglobins, dadurch das das in Erythrozyten vorhandene 2,3-DPG, welches die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins beeinflusst, im freien Hämoglobin nicht mehr vorhanden ist.

Mit der Zeit wurden unterschiedliche Methoden entwickelt, um das Hämoglobin vor Zerfall und frühzeitigem Abbau zu schützen.

Intramolecular cross-linking

Um die Tetramerstruktur des Hämoglobins zu verstärken, wird jeweils zwischen zwei Dimeren des Moleküls eine ‚Brücke‘ aus Zuckermolekülen erzeugt. Dies verhindert nicht nur den Zerfall, sondern führt überdies noch zu verbesserten Sauerstoffbindeeigenschaften.

Polymerisation / Intermolecular cross-linking

Durch den Einsatz sog. Dialdehyde ist es möglich, mehrere Hb-Moleküle miteinander zu verbinden. Dadurch nimmt die Größe der Moleküle um das 5- bis 10-fache zu, was dazu führt, dass sie wesentlich länger im Blutkreislauf verbleiben.

Encapsulation

Durch Kapselung von Hb wird versucht, eine Art künstliche Rote Blutkörperchen zu erzeugen, jedoch ohne die negative Eigenschaft der Blutgruppenantigene. Dabei wird eine größere Menge von Hb-Molekülen in eine Polymermembran eingeschlossen. Probleme gibt es hierbei vor allem damit, ein geeignetes Material für die Membran zu finden. Es muss sowohl biokompatibel wie auch stabil sein, und muss zusätzlich eine für seine Zwecke geeignete Permeabilität aufweisen.

Conjugation / Surface modification

Als Conjugation bezeichnet man das Anbinden biokompatibler Polymere wie beispielsweise Polysaccharid an Hb-Moleküle. Dabei werden die Moleküle etwa um das 5-fache vergrößert, was wie bei der Polymerisation zu einer wesentlich längeren Halbwertszeit im Blutkreislauf führt.

Stand der Entwicklung alternativer Sauerstoffträger

Obwohl schon seit Jahrzehnten an der Entwicklung alternativer Sauerstoffträger gearbeitet wird, gibt es zur Zeit kein Mittel, welches in den USA oder der EU zugelassen ist. Im folgenden wird eine kurze Übersicht über einige zur Zeit in der Entwicklung befindlichen Medikamente gegeben.

Hemospan:

Entwickelt von Sangart (San Diego, Kalifornien), basiert auf aus abgelaufenen Blutspenden gewonnenem Hb, welches mit Hilfe von Polyethylen Glycol stabilisiert wird (*surface modification*).

Stand der Entwicklung:

2004: Erfolgreiche klinische Tests an 90 Patienten in Schweden, hauptsächlich in der Notfallmedizin und bei Operationen.

Zulassung: in den nächsten Jahren möglich

Hemolink:

Hergestellt von Hemosol Inc. (Ontario, Kanada) aus abgelaufenen Blutspenden.

Besteht aus *polymetrisiertem Hb* mit Anteilen von freien Tetrameren (*cross-linked*).

Zunächst erfolgreiche klinische Tests in Kanada und den USA, 2003 traten während einer Studie verstärkte Herzprobleme bei Patienten auf.

Zulassung: nicht absehbar, Hemosol meldete im Nov. 2005 Konkurs an.

PolyHeme:

Hergestellt von Northfield Laboratories Inc. (Evanston, Illinois) aus Blutspenden.

Besteht aus *polymetrisiertem Hb*.

Als bisher einziges Mittel in der außerklinischen Testphase (ambulante Versorgung bei Notfällen) in den USA.

Zulassung: in den nächsten Jahren möglich.

Hemopure:

Hergestellt von Biopure Corp. (Cambridge, Massachusetts) aus Rinderhämoglobin.

Besteht aus stabilisiertem (*cross-linking*) und *polymetrisiertem Hämoglobin*.

Hemopure ist der zur Zeit am weitesten entwickelte Blutersatzstoff.

Bereits 2001 erhielt das Mittel die Zulassung in Südafrika für den Einsatz bei Operationen.

Seit 2002 läuft das Zulassungsverfahren für verschiedene Einsatzgebiete in den USA und der EU.

Der Erfolg von Biopure gründet sich unter anderem auf gute Erfahrungen mit einem weiteren Blutersatzstoff (Oxyglobin), welcher bereits seit einigen Jahren sowohl in den USA wie auch in der EU zur Behandlung von Anämie bei Hunden zugelassen ist.

Oxygent:

Hergestellt von Alliance Pharmaceutical Corp. (San Diego, Kalifornien).

Als ein PFCE der zweiten Generation enthält es rund 60% PFC mit einem Partikeldurchmesser von ca. 0.16-0.18 µm.

Es wurden bisher 20 Studien an rund 1500 Patienten durchgeführt, darunter eine Phase III Studie zum Einsatz in der Chirurgie in der EU.

Zulassung: Sowohl in den USA wie auch in der EU ist eine Zulassung in den nächsten Jahren möglich.

Synthetic Blood International, Inc. und *Sanguine Corp.* sind weitere Firmen, die an der Entwicklung von PFCEs arbeiten, in beiden Fällen haben die klinischen Studien jedoch erst vor kurzem begonnen.

Blutdoping

Die rasche Entwicklung im Bereich künstlicher Sauerstoffträger hat scheinbar auch an anderen Stellen Interesse geweckt. So gab es bereits wiederholt Vermutungen über Blutdoping mit *Hemassist* und *Oxyglobin* bei großen Radsportveranstaltungen wie dem Giro d'Italia und der Tour de France.

Das Interesse an künstlichen Sauerstoffträgern gründet sich darauf, daß sie im Vergleich zu anderen Mitteln, die die sauerstofftransportfähigkeit des Blutes beeinflussen, wesentlich einfacher anzuwenden sind. Während beispielsweise bei der Einnahme von EPO, einem Mittel, welches die Produktion von roten Blutkörperchen erhöht, eine regelmässige Anwendung über mehrere Wochen notwendig ist, um die Zahl der Erythrozyten im Blut spürbar zu erhöhen, ist bei der Einnahme von künstlichen Sauerstoffträgern theoretisch eine einmalige Injektion kurz vor Beginn eines Wettkampfes ausreichend, um eine wesentlich erhöhte Sauerstofftransportfähigkeit zu erreichen.

Pünktlich zu den Olympischen Sommerspielen 2004 kündigte dann auch Dick Pound, Vorsitzender der Welt-Antidoping-Agentur, neue Testverfahren an, die unter anderem auch die Möglichkeit der Feststellung von Sauerstoffträgern wie *Hemopure* beinhalten sollten.

Grundsätzlich stehen alle Mittel, die zu einer künstlichen Erhöhung des Sauerstofftransports im Blut führen, auf der Liste für verbotene Substanzen.

Künstliche Blutplättchen (Thrombozyten)

Der zweite, wenn auch weniger bedeutsame Bereich der Forschungen an Blutersatzstoffen, ist der der künstlichen Blutplättchen.

Obwohl schon seit 1950 in diesem Bereich geforscht wird, gibt es bis heute noch keine Marktreifen Medikamente. Dies liegt vermutlich vor allem daran, daß die Anwendungsgebiete solcher Mittel vergleichsweise beschränkt sind.

Diese liegen in der Behandlung von Thrombozytenmangel im Blut, was beispielsweise bei Hämophilie der Fall ist, oder auch häufig in Zusammenhang mit einer chemotherapeutischen Behandlung auftritt.

Diese Erkrankungen werden momentan mit Thrombozytenspenden behandelt. Diese aus Blutkonserven gewonnenen Mittel weisen jedoch einige wesentliche Nachteile auf. Zum einen ist ihre Haltbarkeit äusserst beschränkt.

Sie werden bei Zimmertemperatur gelagert, und müssen im Verlauf von höchstens fünf Tagen verbraucht werden. Aufgrund der Lagerungsbedingungen ist vor allem die Gefahr durch bakterielle Verunreinigungen besonders gross.

Die Wahrscheinlichkeit eine Kontaminierung einer solchen Spende liegt bei ca. 1:1500. Im Vergleich dazu liegt die Wahrscheinlichkeit, daß eine Blutspende in den USA den HI Virus enthält, bei ca. 1:2.000.000 .

Überdies enthalten Plättchenspenden Leukozyten, welche beim Empfänger eine Immunreaktion auslösen können.

Dementsprechend geht es bei der Entwicklung von künstlichen Thrombozyten vor allem darum, die Haltbarkeit solcher Medikamente deutlich zu verbessern. Im Folgenden wird eine kurze Übersicht über einige in der Entwicklung befindliche Verfahren gegeben.

Frozen plateletes

Die naheliegendste Möglichkeit, die Haltbarkeit zu erhöhen liegt sicherlich darin, die Blutplättchen tiefgekühlt zu lagern. Dabei werden sie in 6% Dimethylsulfoxide bei einer Temperatur von ca. -80 Grad Celsius gelagert, was ihre Haltbarkeit auf bis zu 10 Jahre erhöht. Problematisch hierbei ist der hohe Aufwand bei der Lagerung, weshalb dieses Verfahren nur eingeschränkt genutzt wird.

Infusible platelet membranes

durch einen chemischen Prozess werden die Blutplättchen abgelaufener Spenden zerlegt, und die für den Gerinnungsprozess benötigten Stoffe entnommen. Sie sind dann resistent gegenüber der Immunabwehr und lassen sich für bis zu zwei Jahre lagern.

Cypress Bioscience Incorporated entwickelt ein auf dieser Technologie basierendes Mittel, welches sich bereits in der klinischen Testphase befindet.

Thrombospheres

Bei diesem Verfahren wird in der Tat eine Art künstliche Blutplättchen erzeugt. Diese bestehen aus polymerisiertem menschlichem Albumin (Protein), an dessen Oberfläche Fibrinogen plaziert wird. Das Fibrinogen löst hierbei den Blutgerinnungsprozess aus.

Synthocytes, ein Produkt der Firma Andaris Group Ltd (Nottingham, UK) basiert auf dieser Technologie, und befindet sich in der EU in der klinischen Testphase.

Lyophilized human platelets

Durch einen chemischen Prozess gereinigte menschliche Thrombozyten, die danach in einer Albuminlösung gefriergetrocknet werden.

Ein Produkt dieser Art wird zur Zeit noch in Tierversuchen getestet.

Quellen:

Artificial blood: an update on current red cell and platelet substitutes
Lesley Kresie, MD, Department of Pathology, Baylor University
Proc (Bayl Univ Med Cent). 2001 April; 14(2): 158–161

Blood substitutes Artificial oxygen carriers: perfluorocarbon emulsions
Donat R Spahn, Institut für Anästhesiologie, UniversitätsSpital, Zürich, Switzerland
Crit Care. 1999; 3(5): R93–R97

Synthetic Blood, Webpage designed in April 2005 by students of Brown University(Providence, Rhode Island)
(Organ Replacement 108, Prof. Lysaght) Evan Werlin, Garland McQuinn, Gabriel Lepine, Ruth Ophardt
http://biomed.brown.edu/Courses/BI108/BI108_2005_Groups/10/webpages/index.htm

Die periphere und zentrale Gewebeoxygenierung unter akuter isovolämer Hämodilution mit derbovinen Hämoglobinlösung HBOC-201 imVergleich zu Hydroxyäthylstärke im Tiermodell.
Patricia Radtke, Dissertation, Fachbereich der Medizin der Universität Hamburg, 2001

Links:

Artificial blood: an update on current red cell and platelet substitutes
<http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?tool=pubmed&pubmedid=16369608>

Blood substitutes Artificial oxygen carriers: perfluorocarbon emulsions
<http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?tool=pmcentrez&artid=137239>

Die periphere und zentrale Gewebeoxygenierung unter akuter isovolämer Hämodilution mit derbovinen Hämoglobinlösung HBOC-201 imVergleich zu Hydroxyäthylstärke im Tiermodell.
http://deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=96864838x&dok_var=d1&dok_ext=pdf&filename=96864838x.pdf

Biopure Homepage
<http://www.biopure.com>

Alliance Pharmaceutical Homepage, Oxygent
<http://www.allp.com/Oxygent/OX.HTM>

Northfield Laboratories, Polyheme
<http://www.northfieldlabs.com/polyheme.html>

Das Blut und seine Bestandteile
<http://www.medizinfo.de/wundmanagement/blut.htm>

RoterBlutfarbstoff(Hämoglobin)
<http://www.netdokter.de/laborwerte/fakten/blutbild/haemoglobin.htm>

Patients given artificial blood, article on Hemospan
<http://news.bbc.co.uk/1/hi/health/3207291.stm>

Meeresbewohner liefern künstliches Blut. , article

http://www.innovationsreport.de/html/berichte/medizin_gesundheit/bericht-18399.html

3athlon ezine, kleines Doping ABC

<http://www.3athlon.de/specials/doping/>

ZDF Sport, Artikel, Olympia 2004

<http://www.zdf.de/ZDFde/inhalt/5/0,1872,2178053,00.html>