

Künstliche Sauerstoffträger

Wie lange müssen wir noch warten?

Zusammenfassung

Momentan ist kein künstlicher Sauerstoffträger in Westeuropa zugelassen. Die prinzipielle Funktionalität verschiedener Präparate ist allerdings unbestritten; in Ländern wie z.B. Russland oder Mexiko stehen den Ärzten bereits zugelassene Präparate zur Verfügung. Aufgrund der vielversprechenden präklinischen sowie klinischen Pipeline besteht die Hoffnung, dass in absehbarer Zeit auch im westeuropäischen Raum künstliche Sauerstoffträger eine neue Behandlungsoption darstellen werden.

Summary

In Western Europe no artificial oxygen carrier has been approved yet. However, the general concept of artificial oxygen carriers is beyond dispute. In other countries such as Russia or Mexico, such substances are available for clinical use. The existence of promising preclinical and clinical pipelines yields hope that artificial oxygen carriers will provide an additional treatment in the near future in Western Europe, too.

ZIELSETZUNG

Dieser Review gibt einen Überblick über die Notwendigkeit sowie den aktuellen Entwicklungsstand künstlicher Sauerstoffträger. Die bisher wichtigsten Entwicklungen auf diesem Gebiet mit besonderem Fokus auf klinisch bereits getesteten Präparaten, die sich aktuell in klinischen Studien befinden, werden im Folgenden erläutert. Die Herstellung von Erythrozyten aus Stammzellen wird in einem separaten Artikel dieser Ausgabe der hämotherapie näher beleuchtet.

EINLEITUNG

Blutprodukte sind aus der modernen Medizin nicht mehr wegzudenken. Allerdings sind sie nicht unbegrenzt verfügbar und geraten immer wieder wegen möglicher Infektionsrisiken und Immunmodulationen in die Diskussion¹⁻³. Keimreduktionsmaßnahmen sind zwar in Europa weit verbreitet und etablieren sich immer mehr auch in den USA, in Entwicklungsländern fehlt für solche Maßnahmen aber nicht nur das Geld sondern auch die Infrastruktur⁴. Zudem bergen auch bisher unbekannt Infektionskrankheiten selbst in entwickelten Ländern nach wie vor ein Restrisiko. Außerdem verändern sich Blutprodukte wie z.B. Erythrozytenkonzentrate (EKs) während ihrer Lagerung, wobei die Auswirkungen auf den Patienten nach wie vor umstritten sind und die optimalen Lagerbedingungen sowie die maximal zulässige Lagerdauer immer wieder an neue Erkenntnisse angepasst werden^{5,6}. Aufgrund dieser Lagerungsproblematik (Dauer, Temperatur) sowie dem zeitaufwändigen „matching“ werden klassische Blutpro-

dukte normalerweise erst in der Klinik transfundiert, obwohl es bereits Hinweise gibt, dass einige Patientengruppen von einer möglichst frühen Transfusion noch auf dem Weg vom Unfallort in die Klinik profitieren⁷. Aus all diesen Gründen hat inzwischen in vielen Kliniken ein generelles Umdenken im Umgang mit Blutprodukten stattgefunden und Blutsparmaßnahmen, wie die Anwendung restriktiverer Transfusionstrigger³ oder etwas umfassender „patient blood management“, finden Einzug in viele Häuser¹; allerdings ist ihr Potenzial in Europa noch längst nicht ausgeschöpft⁸. Trotz solcher Maßnahmen wird der Bedarf an Blutprodukten aufgrund des demografischen Wandels in unserer Bevölkerung innerhalb der nächsten 5–10 Jahre wieder zunehmen^{5,9,10}.

Nach wie vor machen allogene EKs dabei den größten Anteil aus; allein 2013 wurden in Deutschland über 4 Millionen EKs transfundiert¹¹. Sicherlich auch deswegen, weil eine funktionierende Sauerstoffversorgung des Gewebes bzw. ein Abtransport von Kohlenstoffdioxid (CO₂) aus dem Gewebe nicht nur bei Patienten mit Anämie oder im hämorrhagischen Schock^{3,12,13}, sondern auch in vielen weiteren Situationen, wie z.B. Sichelzellkrisen, während Operationen mit hohem Blutverlust oder wenn Blut nicht in großen Mengen verfügbar ist (z.B. Katastrophenszenarien, Kriegseinsätze) eine entscheidende Rolle spielt¹⁴.

In all diesen Situationen wären künstliche Sauerstoffträger in plasmaähnlichen Trägerlösungen eine sehr interessante Alternative. Die Ansprüche an das perfekte Blutersatzmittel sind jedoch hoch¹⁴:

- Funktionalität: Gewährleistung einer zu Vollblut äquivalenten Versorgung mit O₂ sowie des Abtransports von CO₂
- Herstellung vollsynthetisch und in großen Mengen (kein Infektionsrisiko, Unabhängigkeit von der Spendenbereitschaft der Bevölkerung, Anwendung Blutgruppen-unabhängig)
- lange Lagerungszeiten ohne Kühlung (Unabhängigkeit von Kühlketten in Entwicklungsländern und Katastrophen- und Kriegsgebieten, Produktion im Voraus möglich, Infusion ohne Auftauen oder Aufwärmen)
- lange Zirkulation im Gefäßsystem (lange Wirkdauer) bei wenig Nebenwirkungen (keine Immunreaktionen, keine Vasokonstriktion, keine chronische Toxizität)

Bisher wurden in der Entwicklung künstlicher Sauerstoffträger im Wesentlichen zwei grundsätzlich verschiedene Ansätze verfolgt: Zum einen die Entwicklung von Sauerstoffträgern auf Hämoglobin-Basis („hemoglobin-based oxygen carriers“, HBOCs), zum anderen die Entwicklung von Sauerstoffträgern auf Perfluorcarbonbasis („perfluorcarbon-based oxygen carriers“, PFCOCs). Beide Substanzklassen ermöglichen den Gastransport auf völlig unterschiedliche Weise. Während HBOCs genau wie natürliches Hämoglobin Sauerstoff (O₂) koordinativ binden, löst sich dieser in PFCOCs physikalisch und linear, abhängig vom jeweiligen Gaspartialdruck (siehe **Abbildung 1**).

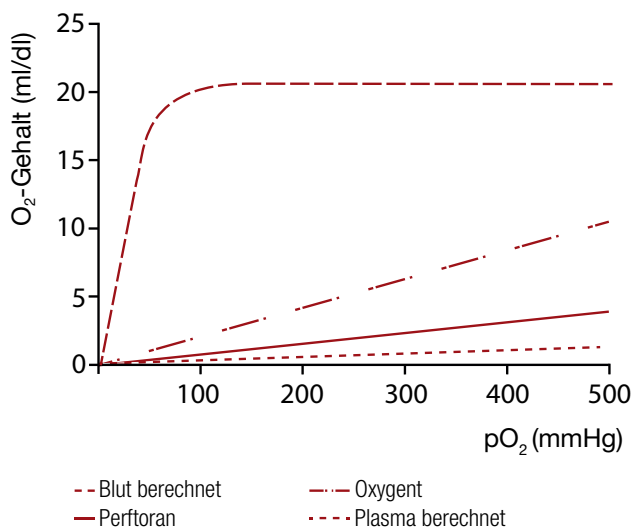


Abbildung 1

Darstellung des Sauerstoffgehalts in Abhängigkeit des Sauerstoffpartialdrucks. Während Blut die typische sigmoidale Bindungskurve aufweist, löst sich Sauerstoff in Plasma und PFCOCs (Perftoran und Oxygent) proportional zum Gaspartialdruck. Während Blut schon bei Luftatmung (100 mmHg) nahezu vollständig mit Sauerstoff gesättigt ist, ist bei PFCOCs eine Sauerstoffbeatmung (500 mmHg) notwendig, um einen relevanten Sauerstoffgehalt zu erreichen. Daten modifiziert nach⁵⁹.

HBOCs

Zu Grunde liegende Idee und zu Grunde liegende Probleme

Bei der Entwicklung künstlicher Sauerstoffträger liegt es nahe, Hämoglobin aus Blut zu isolieren bzw. humanes Hämoglobin synthetisch nachzubilden; dieser Ansatz wird schon seit den 60er Jahren verfolgt¹³. Auch bovines Hämoglobin ist nicht uninteressant, insbesondere wegen seiner guten Verfügbarkeit. Allerdings befindet sich humanes bzw. bovines Hämoglobin nicht grundlos innerhalb von Erythrozyten:

- Ohne die schützende Hülle des Erythrozyten zerfällt Hämoglobin in $\alpha\beta$ -Dimere, die in hohen Konzentrationen die Nierentubuli verstopfen und zu Nierenversagen führen¹⁵.
- Hämoglobinmoleküle haben ohne die zusätzliche Diffusionsbarriere eine zu hohe Affinität zu Stickstoffmonoxid (NO) und erreichen aufgrund ihrer geringen Größe die Zwischenräume der Endothelzellen. Dort fangen sie entstehendes NO ab¹⁶. Dies kann zu Vasokonstriktion (Folge: systemische und pulmonale Hypertension) sowie zu verstärkter Gerinnung (Folge: Myokardinfarkt) führen, da NO seine Funktion als Thrombozytenaggregationshemmer/-Inhibitor nicht mehr wahrnehmen kann^{17,18}.
- Hämoglobin ist als Sauerstofftransporter (nicht als Sauerstoffspeicher) konzipiert; seine Affinität zu Sauerstoff lässt sich durch Interaktion mit Molekülen wie z. B. 2,3-Bisphosphoglycerat (2,3-BPG) regulieren und somit genau auf die unterschiedlichen Anforderungen in der Lunge bzw. der Peripherie abstimmen. Außerhalb eines Erythrozyten sind die Konzentrationen von 2,3-BPG zu niedrig, um die Sauerstoffaffinität zu senken¹⁹. Frei im Blut vorliegendes Hämoglobin wirkt daher eher als Sauerstoffspeicher.

Fazit: Soll aus Erythrozyten isoliertes Hämoglobin als künstlicher Sauerstoffträger verwendet werden, muss dieses entweder mit einer künstlichen Membran umgeben werden oder es müssen chemische Veränderungen am Hämoglobinmolekül vorgenommen werden.

Strategien, aus Vollblut isoliertes Hämoglobin doch nutzen zu können^{20,21}

Um die Dissoziation des Hämoglobintetramers zu unterbinden, eignet sich intramolekulares crosslinking mit Reagenzien wie z. B. Acetaldehyd, Formaldehyd, Pyridoxalphosphat oder Diaspirin. Das Abfangen von NO lässt sich durch Synthese größerer Moleküle, die nicht mehr in die Endothelzellzwischenräume wandern können,

verhindern. Dies wird durch intermolekulares crosslinking, also eine Polymerisation von Hämoglobinmolekülen, z. B. mit Glutaraldehyd oder o-Raffinose, erreicht; eine Pegylierung (Konjugation mit Polyethylenglykol) hat den gleichen Effekt. Auch die Sauerstoffaffinität lässt sich chemisch einstellen; z. B. durch crosslinking mit Pyridoxalphosphat, Diaspirin oder Inositolhexaphosphat, welche die Wirkung von 2,3-BPG nachahmen. Alle angesprochenen Methoden werden bei Centis und Vermette oder auch Scurtu et al. detailliert beschrieben^{15,19}. Allerdings ist die Sauerstoffaffinität bei freiem Hämoglobin durch kovalente Bindung der beschriebenen Moleküle unveränderbar und kann sich nicht, wie es physiologisch der Fall wäre, durch An- und Abdissoziation von 2,3 BPG an die jeweilige Situation (Lunge/Peripherie) anpassen. Die Festlegung der Sauerstoffaffinität ist daher immer eine Gratwanderung: zu hohe Affinität nimmt Hämoglobin die Funktion als Sauerstofftransporter; zu niedrige Affinität könnte eine lokale Überversorgung mit O₂ induzieren, weil das Hämoglobin seinen O₂ zu schnell ins Gewebe abgibt. Das ist für das lokal betroffene Gewebe ungünstig (Bildung von Sauerstoffradikalen, oxidativer Stress) und fördert eine Hypoxie-induzierte Vasokonstriktion, die bereits bestehende, vasokonstriktive Effekte weiter verstärkt. Um der physiologischen Situation etwas näher zu kommen, besteht auch die Möglichkeit, Hämoglobin einzukapseln, z. B. in Liposomen oder abbaubaren Polymerkapseln¹⁹. Der Einschluss in eine künstliche Erythrozytenmembran löst Probleme wie den Zerfall in die nierentoxischen Dimere oder die zu hohe Affinität zu O₂ und NO. Dieser Ansatz bietet

den zusätzlichen Vorteil, weitere Stoffe wie z. B. Enzyme (Catalase, Superoxiddismutase), Antioxidantien (Glutathion, Ascorbinsäure) oder 2,3-BPG mit einzukapseln^{15,22}.

Strategien, andere Quellen als Vollblut für Hämoglobin zu erschließen

Seit den 80er Jahren existieren Bestrebungen, humanes Hämoglobin rekombinant in E.coli herzustellen (rHb2.0, Optro²³). Inzwischen ist sehr genau bekannt, welche Funktionen die einzelnen Untereinheiten/Bausteine von Hämoglobin haben und wo welche Moleküle mit welcher Funktion binden. Durch rationale Mutagenese wurde versucht, an diesen Stellschrauben zu drehen, um Problemen wie z. B. dem Zerfall in Dimere, dem Abfangen von NO oder dem Sauerstofftransportverhalten zu begegnen. Letztendlich war jedoch bis heute keines der rekombinanten Hämoglobine erfolgreich: Sobald eine Eigenschaft genetisch optimiert worden war, verschlechterte sich eine andere durch eben diese Mutation²³.

Als Alternative zu Wirbeltierhämoglobin wird seit einiger Zeit Ringelwurmhämoglobin aus dem Wattwurm (*Arenicola marina*, HEMOXYcarrier²⁴) oder dem Regenwurm (*Lumbricus terrestris*, LtEc²⁵) erforscht. Die Struktur von HEMOXYcarrier unterscheidet sich stark von humanem Hämoglobin. Das 3,6 Megadalton große Molekül kann 156 Moleküle O₂ gleichzeitig transportieren. Obwohl es auch unter physiologischen Bedingungen nicht von einer Membran umgeben ist, fängt es, aufgrund seiner enormen Größe, kein NO in den Endothelzellzwischenräumen



ab, und besitzt zudem eine natürliche Superoxiddismutase-ähnliche Aktivität²⁴. Auch andere Nebenwirkungen wie Immunreaktionen sollen in Säugetieren ausbleiben²⁶.

Strategien, nur die für die Sauerstoffbindung essenziellen Bausteine des Hämoglobins zu nutzen/nachzubauen

Wird ganz isoliert nur die direkte Bindestelle von O₂ im Hämoglobin betrachtet, reduziert sich das Molekül auf den Häm-Baustein (Porphyrinring mit einem zentralen Eisenatom). Aufgrund dieser Überlegung entstand die

Gruppe der Eisenbasierten Sauerstoffträger, eine Untergruppe der HBOCs. Natürliche oder synthetisch hergestellte Häm-Bausteine gibt es mittlerweile z. B. eingebettet in die Membran von Phospholipidvesikeln (Hb-Vesicles)²⁷, in Cyclodextrinen (Hemo-CD)²⁸, umgeben von einer Hülle aus Humanalbumin (PEG-HSA-FeXP)²⁹ oder auch gebunden an die natürlicherweise bereits vorhandenen Bindetaschen von pegyliertem Humanalbumin (PEG-rHSA-Häm, PEG-HSA-FeP)²⁷.

HBOCs: die aktuelle präklinische Pipeline

Viele Präparate befinden sich noch im präklinischen Entwicklungszustand. Einige Präparate waren bereits in Tiermodellen erfolgreich, so dass zu erwarten ist, dass sie in absehbarer Zeit in die klinische Erprobung gelangen:

Präparate ohne synthetische Erythrozytenmembran, weitere Details siehe¹³

- **HEMOXYcarrier, LtEc:** freies, unverändertes Hämoglobin aus Watt- bzw. Regenwurm
 - im Mausmodell zeigte HEMOXYcarrier keine Nebenwirkungen und versorgte hypoxisches Gewebe mit O₂²⁶, LtEc bewies im Hämodilutionsmodell im Hamster gute Sauerstofftransporteigenschaften und verursachte keine Hypertension²⁵
- **Oxyvita:** Rinderhämoglobin, zero-linked (= ohne physiologisch schlecht verträglichen Linker wie z.B. Glutaraldehyd, stattdessen verlinkt über Carboxyl-Lysyl-Reste)³⁰, auch carboxyliert erhältlich (setzt Kohlenstoffmonoxid (CO) frei, dieses soll anti-inflammatorisch und anti-vasokonstriktiv wirken)
 - positive Ergebnisse im schweren hämorrhagischen Schock der Ratte³¹
- **Vitalheme (PNPH):** pegyliertes Rinderhämoglobin, NO-Moleküle kovalent gebunden (dadurch Superoxiddismutase-ähnliche Aktivität)³², auch carboxyliert erhältlich
 - im Mausmodell hämorrhagischer Schock plus Schädel-Hirn-Trauma neuroprotektiv³³
- **Artificial Red Cells:** mit Glutaraldehyd polymerisiertes Rinderhämoglobin verlinkt mit Superoxiddismutase, Catalase und Carboanhydrase³⁴
 - Im Rattenmodell hämorrhagischer Schock erfolgreicher Abtransport von CO₂ aus dem Gewebe^{12,35}

Präparate mit synthetischer Erythrozytenmembran

- **Hb-Vesicles:** Liposomen aus Phospholipiden gefüllt mit humanem Hämoglobin³⁶
 - Im Rattenmodell unkontrollierter hämorrhagischer Schock erfolgreich^{37,38}
- **Neo Red Cells:** Liposomen gefüllt mit humanem Hämoglobin, Inositolhexaphosphat, Nicotinamidadeninucleotid, Glukose, Adenin und Inosin³⁹
 - Austausch von 86 % des Blutvolumens im Kaninchenmodell erfolgreich³⁹
 - Entwicklung momentan zugunsten der Weiterentwicklung von LEH pausiert⁴⁰
- **LEH:** Liposomen aus spezieller Lipidkomposition, teilweise pegyliert, gefüllt mit humanem Hämoglobin und Inositolhexaphosphat^{41,42}
 - Protektiv bei Gehirnschämie an Ratten und Nichtprimaten^{41,43}
- **Hemoglobin-Particles:** Rinderhämoglobin ummantelt mit einer Membran aus Humanalbumin, quervernetzt mit Glutaraldehyd⁴⁴
 - Im Rattenmodell wurde der Austausch von 20 % des Blutvolumens gegen Hemoglobin-Particles gut vertragen⁴⁵

HBOCs in klinischen Studien

Einige wenige HBOCs wurden und werden bereits in klinischen Studien getestet. Obwohl das Konzept des Sauerstofftransports prinzipiell funktionierte, wurden viele Studien aufgrund von Nebenwirkungen der Präparate oder finanzieller Probleme der Sponsoren abgebrochen^{18,46}. Häufig stellte sich im Nachhinein heraus, dass die vermeintlichen Nebenwirkungen doch nicht direkt durch das HBOC selbst verursacht worden waren.

Präparate, die bereits in klinischen Studien getestet wurden

Diese Präparate wurden zwar in klinischen Studien getestet, ihre Entwicklung/Produktion wurde aber inzwischen eingestellt bzw. der Entwicklungsstand ist unklar:

Hemolink

Hemolink ist ein mit Raffinose verlinktes, polymerisiertes, humanes Hämoglobin. Es gelangte bis in eine Phase-II-Studie zur Wirksamkeit und Sicherheit von Hemolink bei Patienten, die sich erstmalig einer Koronararterienbypass-Operation unterzogen (NCT00038454). Aufgrund der in klinischen Studien beobachteten Herztoxizität wurde die Entwicklung eingestellt (letztes Studienupdate in 2005)⁴⁷.

Hemassist (DCLHb)

Bei Hemassist handelt es sich um ein mit Diaspirin verlinktes (diaspirin crosslinked (DCL)), humanes Hämoglobin. Zwei Studien (USA/Europa) an Patienten mit traumatisch-hämorrhagischem Schock mussten 1998 vorzeitig abgebrochen werden. In der US-Studie war die 28-Tages-Sterblichkeit (wahrscheinlich bedingt durch verstärkten Blutverlust verursacht durch Hypertension⁴⁷) in der Hemassist-Gruppe um das 3-fache erhöht⁴⁸; in der zeitgleich im europäischen Raum laufenden Studie konnte kein Benefit unter der Behandlung mit Hemassist beobachtet werden⁴⁹. Ein ebenfalls höheres Todesrisiko unter Hemassist wurde in Studien bei Schlaganfällen sowie verschiedenen Operationen beobachtet, so dass die Produktion von Hemassist eingestellt wurde⁵⁰. In einer Neuauswertung der genannten Trauma-Studien in 2010 konnte weder eine schlechtere Perfusion noch ein Vasopressoreffekt direkt mit der Anwendung von Hemassist korreliert werden^{51,52}.

PHP

PHP ist ein Polyoxyethylen-konjugiertes und pyridoxiliertes humanes Hämoglobin, welches zudem mit Catalase und Superoxiddismutase assoziiert ist. PHP wurde durch die Phoenix-Studie bekannt⁵⁰. Diese, als Phase III konzipierte Studie zur Sicherheit und Wirksamkeit an Patienten

im distributiven (septischen) Schock mit systemisch inflammatorischem Syndrom wurde wegen zu wenig eingeschlossenen Patienten (aufgrund unpassenden Studiendesigns) abgebrochen, obwohl die mit PHP behandelten Patienten weniger Vasopressorverbrauch sowie mehr beatmungsfreie Tage und einen insgesamt kürzeren Aufenthalt auf der Intensivstation aufwiesen als die Kontrollgruppe. Die bis zu diesem Zeitpunkt eingeschlossenen Patienten wurden als Phase-II-Studie ausgewertet, wobei die Patientenzahl nicht ausreichte, um Effekte auf Mortalität oder andere wichtige Endpunkte festzumachen⁵³. Die zunächst in direktem Zusammenhang mit PHP gemeldeten Myokardinfarkte wurden nach Studienabbruch von einem unabhängigen Kardiologenteam als nicht PHP-assoziiert bewertet⁵³.

MP4-OX

Im Gegensatz zur früheren Formulierung (Hemospan) enthält MP4-OX nur noch 4g/dl Maleimid- und PEG-modifiziertes humanes Hämoglobin; eine Konzentration, die ohne Kombination mit Blut nicht mehr zum Überleben ausreicht. Daher wird MP4-OX auch als „Blutexpander“ (hyperonkotisches Kolloid) oder Sauerstofftherapeutikum bezeichnet, welches die Versorgung speziell von schlecht



zugänglichen oder unterversorgten Gewebereichen sichern soll⁵⁰. Eine Phase-IIb-Studie (an der auch mehrere Kliniken in Deutschland beteiligt waren) zur Sicherheit und Wirksamkeit an Patienten mit Laktatazidose, verursacht durch hämorrhagischen Schock, wurde abgeschlossen (NCT01262196). Aufgrund der bei anderen HBOCs aufgetretenen Nebenwirkungen zwang die Food and Drug Administration (FDA) den Sponsor, weitere Studien zunächst an „low-risk“ Patienten und nicht der eigentlichen Zielgruppe durchzuführen. So entstanden Phase-III-Studien zur Verhinderung bzw. zur Behandlung von Hypotension unter Spinalanästhesie, bei Patienten, die eine totale Endoprothese der Hüfte implantiert bekamen. Hier zeigte MP4-OX keine nennenswerten Komplikationen, verkürzte erfolgreich die Hypotension-Episoden und reduzierte den Vasopressorverbrauch⁵⁰. Eine folgende Phase-IIc-Studie an einem besser passenden Patientenkollektiv mit der Indikation hämorrhagischer Schock (NCT01973504) ist noch vor dem ersten Patienteneinschluss zurückgezogen worden, weil der Sponsor seine Geschäfte eingestellt hat.

MP4-CO, ebenfalls eine Weiterentwicklung von Hemospan, enthält CO und soll dadurch antientzündlich und antiapoptotisch wirken⁵⁰. Eine Studie zur Sicherheit von

MP4-CO bei Patienten mit Sichelzellanämie wurde abgeschlossen (NCT01356485), die folgende Phase-II-Studie zur Behandlung von vaso-okklusiver Sichelzellkrise (NCT01925001) wurde, genau wie die erwähnte Phase-IIc-Studie zu MP4-OX, noch vor Einschluss von Patienten aufgrund von Geschäftsaufgabe durch den Sponsor zurückgezogen.

Polyheme

Bei Polyheme handelt es sich um ein mit Pyridoxalphosphat verlinktes und mit Glutaraldehyd polymerisiertes humanes Hämoglobin. Polyheme hatte in vorangegangenen Phase-II-Studien gezeigt, dass es, bei guter Verträglichkeit, die Notwendigkeit von EK-Transfusionen nach einer Operation oder einem Trauma reduziert und auch die Organdysfunktion sowie die immuninflammatorische Antwort nach hämorrhagischem Schock vermindert⁵⁰. Eine Phase-III-Studie an Patienten im hämorrhagischen Schock bot durch die Einbeziehung der Erstversorgung des Patienten am Unfallort ein Studiendesign, das genau auf einen möglichen Einsatzort künstlicher Sauerstoffträger abgestimmt war. In dieser „pre-hospital“-Infusionsphase wurde entweder Polyheme oder kristalloide Volumenersatzlösung verabreicht, im Krankenhaus angekommen erhielt die Kristalloidgruppe EKs, die Polyheme-Gruppe zunächst weiter Polyheme und erst wenn nötig EKs. In der Polyheme-Gruppe wurden mehr (schwere) Nebenwirkungen berichtet, insbesondere Fälle von Myokardinfarkt⁵⁴. In einer nachträglichen Auswertung durch ein unabhängiges Expertenkomitee konnten weder der Zusammenhang zwischen Polyheme und Myokardinfarkt noch unter Polyheme signifikant häufiger auftretende (schwere) Nebenwirkungen bestätigt werden⁵⁰. Dennoch erteilte die FDA (aufgrund des nicht signifikanten Trends zu vermehrt auftretenden Nebenwirkungen unter Polyheme) keine Zulassung; die Firma stellte daraufhin die Entwicklung von Polyheme ein⁵⁰.

Aktuelle klinische Pipeline

Diese Präparate befinden sich aktuell in klinischen Studien, so dass hier eine tatsächliche Option auf Zulassung in absehbarer Zeit besteht.

Hemopure

Hemopure besteht aus mit Glutaraldehyd polymerisiertem Rinderhämoglobin. Im Gegensatz zu seinem veterinärmedizinischen Pendant Oxyglobin ist Hemopure sehr stark gereinigt und enthält nur noch 2% Tetramere, welche für den hypertensiven Effekt verantwortlich gemacht werden⁴⁷. Hemopure ist das einzige HBOC, das bereits zugelassen ist; bisher allerdings nur in Südafrika und Russland, da die FDA eine große Studie an chirurgischen



Patienten aufgrund von Sicherheitsbedenken abbruch⁵⁵. Insbesondere Effekte auf das kardiovaskuläre System (z.B. Myokardinfarkt oder Hypertension) führen immer wieder zu schlechten Studienergebnissen, obwohl die prinzipielle Wirksamkeit von Hemopure unbestritten ist¹⁸. Um eine Zulassung auch in anderen Ländern erwirken zu können, wurden die hämodynamischen Effekte von Hemopure erneut systematisch untersucht (Phase-II-Studie (mit deutscher Beteiligung) an Patienten mit akutem Koronarsyndrom, die eine perkutane, koronare Intervention erhielten)⁵⁶. Nur bei einem Patienten konnte eine schwere Nebenwirkung (Hypertension) direkt mit der Anwendung von Hemopure korreliert werden, außerdem wurden der koronare Blutfluss und der linksventrikuläre „stroke work index“ nicht beeinflusst⁵⁶. Aktuell läuft in den USA eine „expanded access“ Studie zur Behandlung von lebensbedrohlicher Anämie (NCT01881503).

Hemo Tech

Hemo Tech enthält Rinderhämoglobin, welches mit ringoffenem ATP und Adenosin verlinkt und mit Glutathion konjugiert wurde. ATP soll die Dissoziation in Dimere unterbinden, Adenosin eine Vasokonstriktion und Entzündung verhindern und zudem die Polymerisation fördern. Glutathion soll die Extravasation ins Gewebe blocken, die glomeruläre Filtrationsrate durch Absenken des isoelektrischen Punkts erniedrigen und das Hämoglobin vor NO und reaktiven Spezies abschirmen. Beim klinischen „proof of concept“ wurden im Kongo drei Kinder mit Sichelzellanämie erfolgreich behandelt⁵⁷. Andere Indikationen wie z. B. Hirntrauma oder Schlaganfall wurden bisher nur in vitro untersucht⁵⁷.

Sanguinate

Sanguinate ist ein pegyliertes, bovines Carboxy-Hämoglobin, das CO freisetzt. Dieses soll anti-entzündlich, anti-apoptotisch und anti-vasokonstriktiv wirken. Eine Phase-I-Studie wurde ohne Komplikationen abgeschlossen (im Rahmen dieser Studie wurde eine Zeugin-Jehovas mit Sichelzellanämie erfolgreich behandelt)⁵⁸. Weil die Phase-Ib-Studie in Panama und Kolumbien bei Patienten mit Sichelzellanämie (NCT01848925) im Dezember 2014 erfolgreich abgeschlossen werden konnte, wurde die noch laufende Phase-I-Studie in Israel (NCT01847222) im Januar 2015 beendet. Derzeit läuft in den USA eine Phase-II-Studie zur Sicherheit und Wirksamkeit von Sanguinate an Patienten mit erhöhtem Risiko einer verspätet auftretenden Gehirnschämie nach Subarachnoidalblutung (NCT02323685). Eine Phase-I-Studie bei chronischer Niereninsuffizienz (NCT02437422) und eine Phase-II-Studie bei Patienten mit Sichelzellanämie und vaso-okklusiver Krise (NCT02411708) sind geplant.

Perspektive HBOCs

Unter den HBOC basierten künstlichen Sauerstoffträgern ist bisher nur Hemopure in Russland und Südafrika zugelassen. Aufgrund langjähriger Erfahrung mit verschiedensten HBOCs ist ihre Funktionalität allerdings unbestritten; lediglich das Nutzen/Risiko-Verhältnis ist derzeit für viele Zulassungsbehörden nicht akzeptabel. Daher werden nach wie vor neue HBOCs entwickelt oder bereits bekannte Präparate systematisch neu untersucht (auch unter Beteiligung von Zentren in Deutschland oder der USA). Insbesondere Präparate aus der aktuellen klinischen Pipeline haben Chancen, in absehbarer Zeit eine Zulassung zu erreichen.

PFCOCs

Zu Grunde liegende Idee und zu Grunde liegende Probleme

Perfluorcarbone (PFCs) sind synthetische, vollständig halogenierte Kohlenstoffverbindungen (linear, (poly)cyclisch). Meist sind die Wasserstoffatome durch Fluor ersetzt, aber auch andere Halogene wie Brom oder Chlor kommen vor. Wegen der sehr hohen Kohlenstoff-Fluor-Bindungsenergie sind PFCs chemisch und metabolisch inert; d.h. sie bilden keine toxischen Metabolite. PFCs sind weder hydro- noch lipophil und nicht mischbar mit wässrigen Flüssigkeiten wie Blut. Da sie aber eine geringe Löslichkeit in Lipiden aufweisen, werden sie zur intravenösen Anwendung als Emulsionen formuliert. Die Formulierung einer sterilen, bei Raumtemperatur stabilen, homogenen Emulsion mit einer Tröpfchengröße zwischen 0,1–0,2 µm, die für die parenterale Anwendung geeignet ist, ist nicht trivial. Molekulare Diffusion (Oswalddreifung) führt unter diesen Bedingungen schnell zur Tröpfchenvergrößerung. Der Zusatz geringer Konzentrationen von PFCs mit höherem Molekulargewicht (aber längerer Organretentionszeit) als das primär für den Sauerstofftransport ausgewählte PFC sowie die Verwendung von Oberflächenspannung reduzierenden Emulgatoren wirken diesem Problem entgegen⁵⁹. Synthetische Emulgatoren wie z.B. Pluronic F-68 weisen bei schlechter Verträglichkeit sehr gute stabilisierende Eigenschaften auf⁶⁰. Neuere Präparate arbeiten daher mit einer Kombination aus den etwas schlechter stabilisierenden (aber besser verträglichen) Phospholipiden, z. B. aus Eigelb, und hochmolekularen PFCs wie z. B. Perfluordecylbromid ($\text{CF}_3(\text{CF}_2)_{10}\text{Br}$), Perfluortributylamin ($\text{N}(\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_3)_3$) oder Perfluormethylcyclohexylpiperidin ($\text{C}_{12}\text{F}_{22}\text{N}$)⁶⁰.

Aufgrund ihres hohen Lösungsvermögens für Gase eignen sich PFCs besonders gut für den Transport respira-

torischer Gase. Diese lösen sich physikalisch basierend auf dem Henry'schen Gesetz in Abhängigkeit vom jeweiligen Gaspartialdruck (siehe **Abbildung 1**)^{59,61}. Physiologisch relevante Sauerstoffkonzentrationen werden allerdings erst bei Sauerstoffbeatmung erreicht. Im Gegensatz zum Hämoglobin tritt bei PFCs keine Sättigung ein, so dass die Sauerstoffkonzentration im Blut in Druckkammern linear weiter erhöht werden kann. Abgesehen von O₂ lösen sich in PFCs auch andere Gase wie z. B. CO₂, welches daher aus dem Gewebe abtransportiert werden kann⁶². Ähnliches gilt auch für hohe CO-Konzentrationen, z. B. bei Rauchgasvergiftungen⁶³.

Nicht alle PFCs sind für den parenteralen Einsatz als künstliche Sauerstoffträger geeignet. Hier spielen nicht nur die Löslichkeiten respiratorischer Gase eine Rolle, sondern auch Parameter wie Verweilzeit im Gefäßsystem, Emulgierbarkeit und Organretentionszeit⁵⁹. Nach Phagozytose der Emulsionströpfchen diffundieren PFCs zurück ins Blut und werden, assoziiert an Lipoproteinen, zur Lunge transportiert, wo sie (wenn sie einen entsprechend hohen Dampfdruck besitzen) unverändert ausgeatmet werden⁶⁴. Die häufigsten medizinisch verwendeten PFCs sind Perfluordecalin (C₁₀F₁₈), Perfluoroctylbromid (CF₃(CF₂)₇Br), Perfluordichloroctan (C₈Cl₂F₁₆) und Perfluortertbutylcyclohexan (C₁₀F₂₀).

PFCOCs in klinischen Studien

Eine erwähnenswerte präklinische Pipeline existiert derzeit im Bereich der PFCOCs nicht. Allerdings wurden aber einige wenige PFCOCs bereits in klinischen Studien getestet. Ähnlich wie bei den HBOCs wurden viele Studien abgebrochen, obwohl die Funktionalität von PFCOCs unbestritten ist. Anders als bei den HBOCs spielten hier aber häufig nicht nur tatsächliche Nebenwirkungen der Präparate oder finanzielle Probleme der Sponsoren eine Rolle. Stattdessen waren oft z. B. unpassende Studienprotokolle oder schlechte Schulung des beteiligten Personals im Umgang mit PFCOCs selbst oder Begleitmaßnahmen wie z. B. der fachgerechten Hämodilution (in diesem Kontext eine profunde, intraoperative, normovolämische Hämodilution (A-ANH)) ursächlich.

Fluosol-DA

14 % Perfluordecalin, 6 % Perfluortributylamin, Pluronic F-68, Eigelb-Phospholipide

Bereits 1983 sollte Fluosol-DA zur Behandlung von Anämiepatienten in den USA zugelassen werden. Fluosol-DA scheiterte damals nicht aufgrund von Nebenwirkungen oder mangelnder Funktionalität, sondern an seiner kurzen Verweilzeit im Gefäßsystem, die das Outcome der

Anämiepatienten letztendlich nicht verbesserte⁶⁵. Anfang der 90er Jahre wurde Fluosol-DA unter einer anderen Indikation (Verbesserung der Sauerstoffversorgung sowie der Perfusion der Koronararterien bei Koronarangioplastie) in den USA, Europa und Japan zugelassen^{47,64,66}. Nur wenige Jahre später wurde das Produkt wieder vom Markt genommen, weil Stabilitätsprobleme der Emulsion sowie sehr lange Organretentionszeiten (begründet durch Perfluortributylamin) auftraten und die Lagerung bei -20 °C bzw. das langsame Auftauen vor Verwendung des Produkts nicht sehr praktikabel waren⁶⁵. Seit 1994 ist die Produktion von Fluosol-DA eingestellt⁶⁴.

Fluosol-43 (Oxypherol)

20 % Perfluortributylamin, Pluronic F-68

Die Kombination aus Perfluortributylamin sowie Pluronic F-68 resultierte in einer sehr stabilen Emulsion. Aufgrund extrem langer Organretentionszeiten verweigerte die FDA aber die Zulassung und seine Entwicklung wurde eingestellt⁶⁶.

Oxyfluor

78 % Perfluordichloroctan, Eigelb-Phospholipide, Distelöl

Auch natürliche Emulgatoren wie Eigelb-Phospholipide sind in hohen Konzentrationen im Blut toxisch. Daher wurde hier versucht, die Konzentration von Eigelb-Phospholipiden durch den Zusatz von Distelöl zu erniedrigen⁶⁷. Zwei Dosisescalationsstudien (Phase Ia und Ib) wurden abgeschlossen⁶⁷. Darauf folgende Phase-I/II-Studien in den USA und Europa zur Sicherheit und Wirksamkeit von Oxyfluor an Patienten, die einen kardiopulmonalen Bypass- bzw. einen Koronararterienbypass bekamen, wurden freiwillig durch den Sponsor beendet bzw. bis heute pausiert; die amerikanische Studie aufgrund zu niedriger Patienteneinschlussquoten (bedingt durch Verlegung von risikoarmen Herzoperationen in ein Nachbar Krankenhaus), die europäische Studie aufgrund des Wegbruchs der Finanzierung⁶⁷. Oxyfluor wird heute nur noch in vitro in der Mikroskopie verwendet⁶⁶.

Oxygent

58 % Perfluoroctylbromid, 2 % Perfluordecylbromid, Eigelb-Phospholipide

Oxygent schnitt in verschiedenen Phase-II-Studien z. B. an Patienten mit orthopädischen oder herzchirurgischen Eingriffen (meist in Kombination mit Hämodilution) positiv ab^{66,68}. Herz-Kreislauf-assoziierte Nebenwirkungen traten unter Oxygent nicht häufiger als in den jeweiligen Kontrollgruppen auf⁶⁸. In einer unverblindeten, europäi-

schen Phase-III-Studie an Patienten mit chirurgischen (aber nicht herzchirurgischen) Eingriffen wurde Oxygent in Kombination mit Hämodilution eingesetzt. Patienten in der Oxygent-Gruppe wurden seltener transfundiert und benötigten (wenn transfundiert wurde) weniger EKs als die Kontrollgruppe^{68,69}. Die unter Oxygent häufiger auftretenden, schweren Nebenwirkungen (z.B. postoperativer Ileus) bezogen sich alle auf das Verdauungssystem. Das data safety monitoring board stellte fest, dass eben diese Ereignisse in der Kontrollgruppe untypisch selten berichtet worden waren und vermutete eine Beeinflussung des beteiligten Studienpersonals (Hawthorne-Effekt)⁶⁹. Die in der Oxygent-Gruppe nicht immer fachgerecht durchgeführte Hämodilution wurde als eine der Hauptursachen für die häufiger beobachteten Nebenwirkungen unter Oxygent ausgemacht⁶⁸. Die parallel in den USA und Kanada laufende, unverblindete Phase-III-Studie an einem herzchirurgischen Patientenkollektiv wurde 2001 aufgrund von vermehrt auftretenden Schlaganfällen unter Oxygent vom Sponsor abgebrochen^{47,68}. Ähnlich wie in der europäischen Studie waren schwere, unerwünschte Ereignisse (in diesem Fall die Schlaganfallrate und die Mortalität) im Kontrollkollektiv untypisch niedrig. In einer nachträglichen post-hoc Analyse konnten die Schlaganfälle nicht direkt mit dem Einsatz von Oxygent korreliert werden. Vielmehr wurde wieder eine nicht fachgerecht durchgeführte Hämodilution sowie ungleiche Ri-

sikofaktoren in den Studiengruppen als wahrscheinliche Ursache angesehen^{47,66,68}. Aufgrund dieser Erfahrungen legte der Sponsor der europäischen Zulassungsbehörde (EMA) ein neues Studienprotokoll (keine Hämodilution, nur allgemeinchirurgische Patienten) vor. Hier sollten entweder Oxygent oder EKs erst bei Erreichen des Transfusionstriggers gegeben werden. Dieses Studienprotokoll wurde nicht genehmigt, weil die EMA einen direkten Vergleich zwischen einem künstlichen Sauerstoffträger und Spenderblut aus technischen Gründen (z.B. Studienpower) als nicht durchführbar einordnete⁶⁸. Eine 2005 veröffentlichte Studie, in der speziell die Gehirndurchblutung unter Oxygent an herzchirurgischen Patienten untersucht worden war, berichtete von mehr neurologischen Komplikationen wie z.B. cerebralen Emboli unter Oxygent, die ein höheres Schlaganfallrisiko erklären könnten⁷⁰. Allerdings wurden cerebrale Emboli in dieser Studie mit einem transcranialen Doppler-Ultraschall detektiert, was aufgrund der Tatsache, dass PFCs auch als Ultraschallkontrastmittel zugelassen sind und klinisch eingesetzt werden, berechtigterweise in Frage zu stellen ist⁷¹. Die Entwicklung des amerikanischen Oxygents wurde zunächst von einem chinesischen Sponsor weitergeführt^{64,66}, allerdings ist der momentane Entwicklungsstand unklar⁴⁷. Oxygent scheint zumindest für präklinische Studien verfügbar zu sein⁷². Derzeit laufen aber im amerikanischen und europäischen Raum keine klinischen Studien.



Oxycyte

60 % Perfluorertbutylcyclohexan

Eine 2005 begonnene Phase-II-Studie (NCT00174980) an Patienten mit schwerer Schädelfraktur wurde in 2008 abgeschlossen. Die 2009 gestartete Phase-II-Studie (NCT00908063) zur Sicherheit und Wirksamkeit von Oxycyte bei Patienten mit schwerem Schädel-Hirn-Trauma wurde im September 2014 durch den Sponsor beendet; die bisher eingeschlossenen Patienten sollen noch ausgewertet werden⁷³. Nachdem deutlich geworden war, dass die Studie aufgrund niedriger Patienteneinschlussquoten nicht in einem sinnvollen Zeitrahmen abgeschlossen werden kann, entschied sich der Sponsor, ein anderes Produkt aus seinem Portfolio zu fördern⁷³.

Perftoran

14 % Perfluordecalin 6 % Perfluormethylcyclohexylpiperidin, Proxanol 268, Eigelb-Phospholipide

Perftoran ist das einzige bereits zugelassene PFCOC; allerdings nur in Russland, der Ukraine, Kasachstan, Kirgistan und Mexiko^{66,74}. Hauptindikationsgebiete sind akute Blutverluste und die Oxygenierung spezifischer Gewebe, z.B. bei Koronargefäßerkrankungen, Ischämien der Extremitäten oder des Gehirns, aber auch akute und chronische Anämie oder Wundheilung sind Einsatzbereiche von Perftoran⁷⁵. Perftoran ist generell gut verträglich. Bisher berichtete Nebenwirkungen wie transients Juckreiz, Hyperämie, Schwindel, Nierenschmerzen, Hypotension oder Lungenprobleme treten nicht sehr häufig auf⁷⁵. Allerdings ist Perftoran auch gekühlt nur 1 Monat haltbar und weist durch den Zusatz von Perfluormethylcyclohexylpiperidin eine sehr lange Organretentionszeit von 90 Tagen auf⁶⁶. Unter anderem deswegen ist Perftoran bisher weder in Europa noch den USA zugelassen.

Perspektive PFCOCs

Eine relevante präklinische Pipeline neuer PFCOCs existiert derzeit nicht. Zudem befindet sich momentan kein einziges neues Präparat in einer klinischen Studie. Lediglich mit Perftoran werden derzeit klinische Studien durchgeführt, allerdings nur in Ländern, in denen Perftoran bereits zugelassen ist. Studien mit dem vielversprechendsten Vertreter dieser Substanzklasse, Oxycyte, wurden Ende 2014 eingestellt. Aktuell besteht keine Aussicht, dass in naher Zukunft ein neues PFCOC zugelassen wird.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

Noch immer ist in Westeuropa kein künstlicher Sauerstoffträger zur Anwendung am Menschen zugelassen, obwohl die prinzipielle Funktionalität sowohl von HBOCs als auch von PFCOCs offensichtlich ist. Häufig standen finanzielle Probleme der Sponsoren oder fälschlicherweise dem Studienpräparat zugeordnete, unerwünschte Ereignisse einem erfolgreichen Abschluss der klinischen Studie entgegen. Tatsächliche Nebenwirkungen der Präparate spielten meist nur eine untergeordnete Rolle. Deswegen bewerteten die Behörden anderer Länder das Nutzen-/Risikoprofil solcher Präparate teilweise auch anders und ermöglichten die Zulassung von Hemopure (HBOC) bzw. Perftoran (PFCOC). Aufgrund der zu erwartenden Knappheit von Blutprodukten in den kommenden Jahren sowie immer wieder diskutierter, transfusionsassoziierter Nebenwirkungen, brauchen aber auch wir solche künstlichen Sauerstoffträger. Um den hier entstehenden Bedarf decken zu können, werden bis heute ständig neue künstliche Sauerstoffträger (aktuell primär HBOCs) entwickelt. Allerdings hat sich der Fokus innerhalb der letzten Jahre deutlich verändert. War es früher das Ziel, herkömmliche Blutprodukte vollständig zu ersetzen, ist die Idee heute eher, den Ärzten eine zusätzliche Behandlungsoption, insbesondere in der Notfallmedizin, zu bieten, um nur begrenzt verfügbare Blutprodukte effizient an ausgewählten Patienten einsetzen zu können. Mit dem vorzeitigen Ende der Phase-II-Studie von Oxygent im September 2014, ist das vielversprechendste PFCOC aus der klinischen Pipeline weggebrochen. Da sich im Gegensatz zu den HBOCs derzeit keine weiteren PFCOCs in klinischen Studien befinden, ruhen alle Hoffnungen nun auf den HBOCs. Diese sind, aufgrund der vielversprechenden klinischen Pipeline, nicht unberechtigt, doch auch hier wird es sicherlich noch einige Jahre bis zur Zulassung dauern.

Die Autorin



Dr. Katja Bettina Ferez
Universitätsklinikum Essen
Institut für Physiologische Chemie

Die Literaturhinweise zu diesem Artikel finden Sie im Internet zum Download unter: www.drk-haemotherapie.de