

Mit Hightech gegen Blutarmut

Gentechnisch gewonnenes Erythropoetin kann helfen, bei Nierenpatienten eine Blutarmut zu verhindern. Die Herstellung erfordert allerdings einiges an technologischem Know-how.

Die Nieren bilden nicht nur den Urin. Sie haben auch wichtige Aufgaben bei der Regulation des Blutdrucks, des Säure-Basen-Haushalts und der Produktion lebensnotwendiger Hormone. Zu diesen gehören Calcitriol, welches den Calciumbestand des Körpers sichert, und Erythropoetin, welches für die Produktion roter Blutzellen (Erythrozyten) notwendig ist. Der Name „Erythropoetin“, der eigentlich richtiger „Erythropoietin“ lautet, leitet sich vom altgriechischen erythros (rot) und poiein (machen) ab. Statt des relativ umständlichen Begriffes wird aber auch oft die Abkürzung EPO verwendet.

Blutarmut ist, als renale Anämie. Die Folgen einer Anämie sind in Tabelle 1 dargestellt.

Seit 20 Jahren ist es möglich, die Anämie von Nierenpatienten sowohl im Prädialysestadium als auch unter der Dialyse durch die Verabreichung von gentechnisch hergestelltem rekombinantem humanem Erythropoetin (rHuEPO) zu vermeiden. Bevor rHuEPO verfügbar war, benötigten etwa 25 % aller Dialysepatienten regelmäßig Bluttransfusionen. Obwohl das Risiko einer Krankheitsübertragung durch Blutkonserven in Deutschland sehr gering ist, können Virusinfektionen – vor allem mit Hepatitis-Erre-

»Wenn die Filtrierfähigkeit der Nieren auf 30 % abgefallen ist, entwickelt sich eine Blutarmut.«

Die Dialyse ersetzt die Ausscheidungsfunktion der Nieren, aber nicht die Hormonproduktion. Wenn die Filtrierfähigkeit der Nieren auf 30 % abgefallen ist, entwickelt sich eine Blutarmut. Eigentlich handelt es sich dabei um einen Mangel an roten Blutkörperchen. Die Mediziner bezeichnen dies als Anämie beziehungsweise, wenn die Niere die Ursache für die

gern – nicht vollständig ausgeschlossen werden. Zudem führen häufige Bluttransfusionen zu einer Eisenüberladung des Körpers.

Erythrozyten – die Sauerstoff-Transporteure

Erythrozyten sind mittig eingedellte Scheibchen, die im Blut zirkulieren.

Im Gegensatz zu den meisten anderen Zellen in unserem Körper enthalten sie keinen Zellkern. Dafür befindet sich in ihnen reichlich roter Blutfarbstoff. Dieser wird auch als Hämoglobin bezeichnet. Er nimmt in den

Nieren hergestellt und nur im geringen Ausmaß in anderen Organen wie der Leber oder dem Gehirn. Das Hormon bindet an spezifische Rezeptoren seiner Zielzellen und regt sie zur Teilung und Hämoglobinsynthese

drastisch an. Die Existenz des Erythropoetins blieb Jahrzehnte umstritten. Erst 1953 gelang es dem amerikanischen Hämatologen Allan Erslev, die Experimente von Carnot in einem verbesserten Versuchsansatz zu wiederholen. Vorausschauend schrieb Erslev 1953: „Die Isolierung und Reindarstellung des erythropoetischen Faktors ergäbe einen nützlichen Wirkstoff für die Behandlung von Erythrozytenbildungsstörungen, z. B. bei chronischen Infektionen und Nierenerkrankungen“.

Funktionseinschränkung verschiedener Organe durch Anämie

Organ	physische Symptomatik	psychische Symptomatik
Herz	niedriger Blutdruck, Angina pectoris, Herzjagen	Angst, Schwindelgefühl
Muskulatur	allgemeine Schwäche, schnelle Erschöpfbarkeit	Antriebsarmut, Depression
Genitaltrakt	gestörte Menstruation, Erektionsstörungen	
Haut	Blässe, Kältegefühl	
Gehirn	Kopfschmerzen, Schwindel	Konzentrationsschwäche, Angst, Depression

Tab. 1: Die Folgen einer Anämie sind sowohl körperlicher als auch psychischer Natur.

Lungen Sauerstoff (O₂) auf und gibt ihn im Gewebe wieder ab. Bei einem Mangel an roten Blutkörperchen und damit an Hämoglobin kommt es daher zu einem Sauerstoff-Mangel im Gewebe.

Frauen haben weniger Erythrozyten

Frauen besitzen durchschnittlich 4,5 und Männer 5 Millionen Erythrozyten pro Mikroliter Blut. Der Anteil der roten Blutzellen am Gesamtblutvolumen wird auch als Hämatokrit bezeichnet. Dieser beträgt bei Frauen 42 % und bei Männern 47 %. Der gesunde Mensch bildet pro Sekunde etwa 3 Millionen neue Erythrozyten.

Erythropoetin zwingend notwendig

Die Erythrozyten wachsen im roten Knochenmark als Nachkommen erythroider Vorläuferzellen heran. Zur Vermehrung und Reifung der Vorläuferzellen ist Erythropoetin zwingend notwendig. Erythropoetin wird fast ausschließlich in den

se an. Dieser Prozess verläuft langsam. Erst nach 3 bis 4 Tagen verlassen die neuen jungen roten Blutzellen das Knochenmark und treten in die Blutbahn über.

Testosteron verstärkt Erythropoetin

Es gibt einige andere Hormone, die die Erythropoetin-Wirkung verstärken. Das männliche Sexualhormon Testosteron hat diese Fähigkeit. Dies ist Grund für die höheren Erythrozyten-, Hämatokrit- und Hämoglobin-Werte im Blut von Männern gegenüber Frauen. Ein weiterer Faktor, der die Erythropoetin-Produktion ankurbelt, ist Sauerstoffmangel. Dieser Effekt tritt zum Beispiel bei einem Aufenthalt in größerer Höhe in den Bergen auf.

Der Pariser Arzt Paul Carnot postulierte 1906 als erster, dass Hormone die Blutzellbildung regeln. Carnot hatte Kaninchen einem Aderlass unterzogen. Als er den Tieren am folgenden Tag erneut Blut abnahm und das Serum normalen Kaninchen spritzte, stieg deren Blutzell-Zahl

1977 wurde Erythropoetin erstmals in Reinform hergestellt. Aus 2500 Liter Urin von Patienten mit schwerer Anämie wurden gerade einmal 10 mg Hormon gewonnen. Diese kleine Menge hätte höchstens gereicht, um zwei Dialyse-Patienten ein Jahr lang zu behandeln. Das Erythropoetin aus Urin wurde deshalb nicht zu Behandlungszwecken eingesetzt, sondern um die Struktur des Hormons aufzuklären. Es stellte sich heraus, dass Erythropoetin ein Eiweiß (Protein) ist, das aus 165 Aminosäuren und vier Zuckerketten be-

steht. Dank dieser Kenntnis gelang es 1985, das menschliche Erythropoetin-Gen zu isolieren. Damit war das Tor zur gentechnischen Gewinnung von rHuEPO geöffnet.

Gentechnische Gewinnung von Proteinen

Erst seit ungefähr 30 Jahren ist es möglich, in Kulturen aus Hefen, Bakterien oder tierischen Zellen menschliche Proteine gentechnisch herzustellen, um sie als Biopharmazeutika oder Diagnostika zu nutzen. Die Reihenfolge von Aminosäuren in den Proteinen ist in der Erbsubstanz durch Desoxyribonukleinsäuren (DNS) verschlüsselt. Zur Produktion von Biopharmazeutika wird die menschliche DNS, zum Beispiel für Erythropoetin, in Wirtszellen eingeschleust, die die Fähigkeit haben, sich schnell zu vermehren. Dies sind im Allgemeinen gentechnisch veränderte Zellen.

Dazu muss die Erbinformation mit einem Plasmid kombiniert werden. Plasmide sind ringförmige DNS-

Unter dem Mikroskop sind rote Blutkörperchen durch ihre typische Form und Farbe auch für Laien leicht zu erkennen.

Damit die gentechnisch veränderten Zellen die gewünschten Proteine produzieren können, werden sie in so genannten Bioreaktoren massenhaft vermehrt.

Strukturen, die als Trägerstoff dienen. Da das menschliche Erbgut in artfremde Zellen integriert und dabei eine neue DNS-Folge erzeugt wird, spricht man von rekombinanter DNS und rekombinantem Protein. Der genetische Code wird in allen Organismen identisch übersetzt, so dass eine humane DNS-Sequenz in einer fremden Zelle die gleiche Aminosäuresequenz und damit die gleichen Proteine ergibt wie in einer menschlichen. Das EPO-Molekül ist allerdings kein reines Protein, sondern ein Glykoprotein, d.h. es besitzt auch Seitenketten aus Zuckermolekülen. Die Struktur dieser Seitenketten hängt nicht von dem eingeschleusten EPO-Gen ab, sondern ist wirtszellspezifisch.

Ist es einmal gelungen die menschliche Erbinformation in eine Wirtszelle einzuschleusen, so wird diese Zelle vermehrt. Dabei entstehen viele exakte Kopien dieser Zelle. Diese kann man einfrieren und be-

Prinzipielle Produktionsschritte

- Konstruktion des rekombinanten DNS-Moleküls
- Wahl der Wirtszelle (Gattung, Spezies, Gewebe, Linie)
- Einschleusen der DNS in die Wirtszelle
- Erstellung einer Zellbank
- Massenhaftes Vermehren einiger Zellen aus der Zellbank, Proteinproduktion
- Reinigung des rekombinanten Proteins
- Produktanalyse (Identität, Reinheit, Wirksamkeit)
- Formulierung und Abfüllung

kommt so eine Zellbank mit lauter gleichen Zellen. Für die Produktion werden dann ein paar Zellen aus dieser Zellbank aufgetaut und wieder vermehrt. Die Kopien der Zellen füllen schließlich irgendwann große Bioreaktoren mit einem Fassungsvermögen von 10.000 Liter und mehr. Neben ihrem normalen Stoffwechsel produzieren sie jetzt auch die Substanz, deren Erbinformation in ihre Mutterzellen eingeschleust wurde. Am Ende der Produktion muss die betreffende Substanz nur noch aus dem bei der Vermehrung entstandenen Gemisch herausgefiltert und gereinigt werden.

Die Möglichkeit, humane Proteine gentechnisch herzustellen, war ein

Meilenstein der Pharmakologie. Insulin war 1978 eines der ersten so hergestellten Arzneimittel. Rekombinante Proteine werden heute routinemäßig für die Behandlung von Anämien, Blutstillungsstörungen, endokrinen Mangelzuständen, immunologischen und infektiösen Prozessen, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, neurologischen Störungen und Krebs eingesetzt.

der Wirtszelle hamstertypisch. Die CHO-Zelllinien, die pharmazeutische Unternehmen verwenden, sind allerdings genetisch nicht völlig identisch, und die konventionellen Präparate Epoetin alfa und Epoetin beta unterscheiden sich in der Feinstruktur ihrer Zuckerketten. Auch das seit 2001 vermarktete rHuEPO-Analogon Darbepoetin alfa, welches eine leicht veränderte Aminosäuresequenz auf-

„Continuous Erythropoiesis Receptor Activator“) zugelassen. C.E.R.A. ist ein Epoetin beta, an das zur Verlängerung der Wirkdauer ein Polyäthylenglykol angekoppelt ist. Die Halbwertszeit des zirkulierenden C.E.R.A. beträgt sechs Tage gegenüber 24 Stunden von Darbepoetin alfa und sechs bis neun Stunden von Epoetin alfa, Epoetin beta oder Epoetin delta.

Was sind Biosimilars?

2007 hat die europäische Zulassungsbehörde EMA (European Medicines Evaluation Agency) eine positive Empfehlung für Epoetin-Biosimilars aus CHO-Zellkulturen ausgesprochen. Biosimilars sind Nachahmerprodukte, die von anderen Firmen als den Originalfabrikanten hergestellt werden. Bei Erythropoetin ist dies möglich geworden, nachdem der Patentschutz für Epoetin alfa und beta in der EU ausgelaufen ist. Die Biosimilar-Produkte werden als Epoetin alfa oder Epoetin zeta vermarktet und werden voraussichtlich etwas billiger sein als die Originalarzneimittel.

Ein Ersatz der Originalpräparate – wie bei generischen Arzneimitteln – ist mit Biosimilars jedoch nicht ohne weiteres möglich. Biosimilars sind keine Generika. Die Struktur der Zuckerketten rekombinanter Glykoproteine ist von den Eigenschaften der Wirtszelle, den Zellkulturbedingungen und den Reinigungsverfahren abhängig. Daher können Biopharmazeutika – anders als synthetisch hergestellte Arzneimittel – nicht identisch von anderen Herstellern kopiert werden.

rHuEPO wird aber nicht nur in Europa produziert. In vielen Ländern, in denen der Patentschutz für die Herstellung nicht gilt, wird es ebenfalls hergestellt. Über die genaue Zusammensetzung und die Qualität die-

Schematische Darstellung eines Erythropoetin-Moleküls.

Unterschiede der gentechnisch hergestellten Erythropoetine

Zur Herstellung der herkömmlichen rHuEPO-Präparate wird eine Zelllinie benutzt, die vor ca. 50 Jahren aus dem Eierstock eines chinesischen Hamsters angelegt worden ist (CHO, „Chinese Hamster Ovary“). Entsprechende Präparate sind seit 1988 zur Behandlung der Anämie bei chronischer Niereninsuffizienz zugelassen. Bei den rHuEPO-Präparaten ist der Proteinanteil des EPOs humanidentisch und die Struktur der Zuckerseitenketten entsprechend

weist und zwei zusätzliche Zuckerketten besitzt, stammt aus CHO-Zellkulturen.

Seit 2007 ist in Deutschland ein neues Produkt namens Epoetin delta verfügbar. Epoetin delta wird aus Kulturen einer menschlichen Zelllinie gewonnen. Durch einen molekularbiologischen Trick (Aktivierung des Promotors) konnte in den Zellen das eigene Erythropoetin-Gen aktiviert werden. Bei Epoetin delta ist daher nicht nur das Protein humanidentisch, sondern auch die Zuckerketten sind denen des körpereigenen Erythropoetins besonders ähnlich.

Als weiteres neues Präparat wurde kürzlich das so genannte C.E.R.A.

ser Produkte ist wenig bekannt. Der holländische Pharmakologe Schellekens hat elf Epoetine aus CHO-Zellkulturen von acht Herstellern außerhalb der EU und den USA auf ihre Wirksamkeit und Reinheit untersucht. Schellekens stellte nicht nur große Unterschiede zwischen den Produkten der verschiedenen Hersteller, sondern auch zwischen verschiedenen Chargen derselben Hersteller fest. Zudem stimmte die auf den Ampullen deklarierte Wirkstoffdosis gelegentlich nicht.

Nutzen der Erythropoetin-Therapie

Primäres Ziel der Gabe von rHuEPO und seinen Abkömmlingen ist es, die Transfusion von fremden Erythrozyten zu vermeiden. Da rHuEPO das Grundleiden nicht beseitigt, muss der Ersatz mit dem rekombinanten Arzneimittel zeitlebens fortgesetzt werden, wenn keine Nierentransplantation durchgeführt wird. Die rHuEPO-Behandlung bessert die Sauerstoff-Versorgung des Gewebes. Mit der Korrektur der Anämie nimmt die Lebensqualität zu (Wiedererlangung der Arbeitsfähigkeit, Appetitzunahme, Rückkehr sexueller Libido und Potenz, psychisches Wohlbefinden, Abnahme der Schlafstörungen, Verschwinden der Depressionen). Bei der Echokardiographie zeigt sich, dass die Überaktivität des Herzens nachlässt. Im Elektroenzephalogramm (EEG) wird eine verbesserte Hirnfunktion sichtbar.

Nebenwirkungen

Rekombinantes humanes Erythropoetin wird in der Regel sehr gut ver-

Rekombinante Erythropoetinpräparate sowie Analoga				
Wirkstoff	Humane Proteinstruktur	Humane Kohlenhydratketten	Produktionszelllinie	Besonderheiten
Epoetin alfa	Ja	Nein	CHO-Zellen	
Epoetin beta	Ja	Nein	CHO-Zellen	
Epoetin delta	Ja	Ja	Humane Zelllinie	Körpereigenem EPO sehr ähnlich
Darbepoetin alfa	Nein	Nein	CHO-Zellen	Lange Halbwertszeit
C.E.R.A.	Ja, Protein an Polyäthylenglykol gekoppelt	Nein	CHO-Zellen	Sehr lange Halbwertszeit
Biosimilars (Epoetin alfa, Epoetin zeta)	Ja	Nein	CHO-Zellen	

Tab. 2: Mittlerweile sind vielfältige Erythropoetine auf dem Markt. Sie unterscheiden sich vor allem in der Zusammensetzung und Struktur ihrer Zuckerketten.

tragen. Seine therapeutische Breite ist sehr groß. Toxische Schäden gibt es kaum.

Mit Zunahme der Hämoglobinsynthese steigt der Eisenbedarf. Es kann daher unter der Therapie mit rHuE-

po zu einem Eisenmangel kommen. Dieser ist die häufigste Ursache für ein Therapieversagen. Um ihn zu vermeiden, muss häufig zusätzlich zum Erythropoetin auch ein Eisenpräparat gegeben werden.

Bei einigen Patienten kann es zu einer Blutdruckerhöhung kommen, die zum Teil auf der Anhebung des Hämatokrits

und den damit verbundenen zäheren Fließeigenschaften des Blutes beruht.

Interessant ist die Verkürzung der Blutungszeit unter der rHuEPO-Therapie. Dieser Nebeneffekt ist häufig günstig, da Dialysepatienten nicht selten unter einer Blutungsneigung leiden. Andererseits kann es erfor-

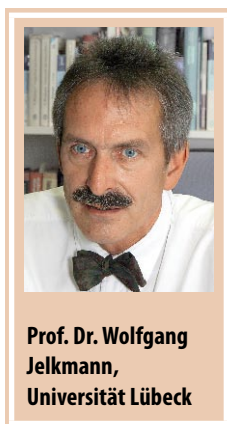
derlich werden, die Thrombozyten-Aggregation und die Plasmagerinnung medikamentös zu senken, um einen Verschluss des Dialyse-Shunts zu verhindern.

Die Kaliumkonzentration im Plasma kann zunehmen. Ursache hierfür ist wahrscheinlich eine vergrößerte orale Kaliumzufuhr durch den gesteigerten Appetit der Patienten.

Andere Indikationen für rHuEPO

Die Wirksamkeit von rHuEPO hat auch außerhalb der Nephrologie Beachtung gefunden. Eine wichtige Indikation stellt die durch die Chemotherapie verursachte Anämie bei Tumorpatienten dar. Auch für die operative Medizin ist rHuEPO ein interessantes Medikament. Bei längerfristig geplanten chirurgischen Eingriffen kann rHuEPO verabreicht werden, um eigene Blutkonserven der Patienten zur späteren Transfusion zu gewinnen.

Prof. Dr. Wolfgang Jelkmann
Universität Lübeck



**Prof. Dr. Wolfgang Jelkmann,
Universität Lübeck**