

Wo kommt mein Faktor her?



INFORMATION | Herstellung von Gerinnungsfaktoren zur Behandlung der Hämophilie
Für Ärzte, Patienten und Angehörige

Inhalt

- Seite 4** | Einleitung
- Seite 6** | Die Geschichte der Faktorpräparate
- Seite 8** | Plasmatische Faktorpräparate
- Seite 12** | Was ist eigentlich Biotechnologie, was ist Gentechnik?
- Seite 14** | Beispiele aus der Biotechnologie
- Seite 16** | Rekombinante Faktorpräparate
- Seite 20** | Glossar
- Seite 23** | Referenzen
- Seite 26** | Faktoren im Vergleich

EINLEITUNG

Was noch in der Generation unserer Großeltern in schweren Fällen ein frühes Todesurteil bedeuten konnte, hat heute zum Glück seinen Schrecken verloren: Hämophilie, früher als Bluterkrankheit oder »Krankheit der Könige« bekannt, ist mittlerweile gut behandelbar.^{1,2} Auch wenn der Erbfehler, der die Krankheit auslöst, noch nicht heilbar ist, können die fast ausschließlich männlichen Patienten mit Hämophilie in vielen Fällen ein weitgehend normales Leben führen.³

Gewinnung von Gerinnungsfaktoren aus Blutplasma und biotechnologischer Herstellung

Bei Hämophilie kann der Körper – je nach Typ A oder B – den Blutgerinnungsfaktor VIII oder IX nicht in ausreichender Menge produzieren. Dank der Innovationen der letzten drei Jahrzehnte können diese Gerinnungsfaktoren heute als Medikamente in ausreichender Menge bereitgestellt werden. Vor rund 45 Jahren konnte der Faktor VIII, dessen Mangel Hämophilie A verursacht, erstmalig aus Blutplasma von menschlichen Spendern gewonnen werden. In der Folgezeit gelang dies auch für Faktor IX, dessen Mangel Hämophilie B verursacht. Die Gewinnung der beiden Faktoren aus menschlichem Blut war ein bedeutender medizinischer Durchbruch in der Hämophiliebehandlung.⁴

Dennoch war die Entwicklung nicht frei von Rückschlägen: In der Vergangenheit wurden viele Patienten durch Faktorkonzentrate aus dem Blutplasma infizierter Blutspender mit HIV, Hepatitis C und B und anderen Viren angesteckt.⁴ Infolge der vermehrten Infektionen wurden daraufhin verbesserte Verfahren entwickelt, um Plasma aufzureinigen und eventuell vorhandene Viren unschädlich zu machen, zu »inaktivieren«, wie es in der Fachsprache heißt. Wenn diese Methoden der Aufreinigung und Inaktivierung bestimmungsgemäß angewendet werden, können diese Infektionsrisiken heute so gut wie ausgeschlossen werden.⁵ Es gibt jedoch bestimmte Viren, bei denen eine Kontamination der

Faktorkonzentrate immer noch nicht völlig ausgeschlossen werden kann, wenn diese aus menschlichem Blutplasma hergestellt werden. Zu ihnen gehört z.B. das humane Parvovirus B19, das für die Kinderkrankheit Röteln verantwortlich ist und im Verdacht steht, Arthritis auszulösen.⁶⁻¹¹

Um das Risiko einer Kontamination mit Krankheitserregern noch weiter zu minimieren, wurde ein anderes Herstellungsverfahren für die Faktorkonzentrate entwickelt. In diesem Verfahren wird der Gerinnungsfaktor nicht aus menschlichem Plasma, sondern im Bioreaktor mit Hilfe einer gentechnisch (rekombinant) veränderten Zellkultur gewonnen. Man spricht hier von biotechnologisch hergestellten Faktorpräparaten.^{4,12} In diesem Herstellungsprozess wird zunehmend auf den Zusatz von humanen oder tierischen Substanzen verzichtet; die neueste Generation von rekombinanten Faktoren VIII und IX kommt sogar völlig ohne solche Substanzen aus.¹³⁻¹⁶ Dadurch wird ein sehr hoher Sicherheitsstandard erreicht.

Die vorliegende Broschüre soll einen Überblick über die Forschungsgeschichte und detaillierte Informationen zu den beiden Herstellungsverfahren geben.



DIE GESCHICHTE DER FAKTORPRÄPARATE

2009

Wyeth (heute Pfizer) führt einen rekombinanten FVIII ein, der von der Zellkultur bis zum fertigen Präparat ohne den Zusatz von humanen und tierischen Eiweißen auskommt. Das verbesserte Herstellungs- und Aufreinigungsverfahren mit einer zusätzlichen Nanofiltration führt zu einem Produkt hoher Reinheit.^{14,20}

2009

Späte 1990er

Wyeth (heute Pfizer) führt das erste rekombinante FIX-Präparat ein. Durch den Verzicht auf tierische und humane Eiweiße im gesamten Herstellungs- und Aufreinigungsprozess und eine zusätzliche Nanofiltration setzt Wyeth (heute Pfizer) einen neuen Standard in der Herstellung rekombinanter Faktorpräparate.¹⁵ Kurze Zeit später wurde von Wyeth (heute Pfizer) der erste rekombinante Faktor VIII eingeführt, der wie der FIX in der Endformulierung ohne Albuminstabilisierung auskommt.^{4,19}

2. Jhd.

Die Hämophilie wurde erstmals im 2. Jahrhundert nach Christus dokumentiert.

vor 1840

Keine Behandlung möglich. Von 52 Blutern sterben 49 bis zum 20. Lebensjahr, nur 10 Patienten werden älter als 10 Jahre.^{3,17}

1840

Erste – wenig erfolgreiche – Versuche mit Vollblutinfusionen.³

um 1850

Königin Victoria von England (1819 – 1901) ist Trägerin der Krankheit und gibt diese an einige ihrer Nachkommen und damit in verschiedene europäische Herrscherhäuser weiter. Daher wird die Hämophilie auch als »Krankheit der Könige« bezeichnet. Die durchschnittliche Lebenserwartung liegt bei 16 Jahren.

ab ca. 1940

Behandlung mit Blutplasma.³

1964

Dr. Judith Pool entdeckt das »Kryopräzipitat«, einen Vorläufer der heutigen plasmatischen Substitutionspräparate.

1966

Zulassung des ersten plasmatischen Faktor-VIII-Präparats mit geringer Reinheit.³

1970er

Teils verunreinigte plasmatische FVIII-Präparate. Erste Spender- und Plasmauntersuchungen auf Hepatitis B.^{4,18}

Frühe 1980er

Einführung der Hitzebehandlung als erste vireninaktivierende Maßnahme.⁴

Mitte 1980er

Mittelreine Präparate verfügbar. Untersuchung der Präparate auf HIV und weitere Virus-inaktivierungsmaßnahmen neben der Hitzebehandlung.^{4,18}

Späte 1980er

Aufreinigung und Konzentration über verschiedene chromatographische Schritte.

Frühe 1990er

Spender und Plasma werden auf Hepatitis C untersucht. Das erste gentechnologisch hergestellte (»rekombinante«) FVIII-Präparat kommt auf den Markt.^{4,18}

Frühe 2000er

Der erste rekombinante Faktor VIII, dessen Zellkultur und Endformulierung frei ist von humanen oder tierischen Substanzen, kommt auf den Markt.⁴



PLASMATISCHE FAKTORPRÄPARATE

Mitte des letzten Jahrhunderts gelang es, die begehrten Gerinnungsfaktoren aus menschlichem Spenderblut oder Blutplasma in größeren Mengen zu isolieren und aufzureinigen, sodass die Bluterkrankheit erstmals systematisch mit zufriedenstellenden Erfolgen behandelt werden konnte.

Für die Gewinnung von Gerinnungsfaktoren aus menschlichem Blutplasma wird eine sehr große Menge an Spendern benötigt. Zur weiteren Verarbeitung wird zunächst das Plasma von tausenden von Spendern in einem Plasmapool zusammengeführt. Mit der hohen Anzahl von Blutspendern geht ein hohes Infektionsrisiko mit Krankheitserregern wie Bakterien und Viren einher, das durch aufwendige Sicherheitsmaßnahmen minimiert wird.^{4,5}

Die Spender werden ebenso gründlich untersucht wie das Blutplasma, und nur Blutplasma von gesunden Spendern gelangt überhaupt in die Produktion. Mittels Hitzebehandlungen und chemischer Methoden werden potenzielle Viren unschädlich gemacht (inaktiviert). Zusätzlich führt eine Reihe aufeinanderfolgender Filtrations- und Chromatografieschritte (Auftrennungsschritte) zu einem Produkt, das im Vergleich zu den ersten plasmatischen Präparaten als deutlich sicherer eingestuft werden kann.^{4,5}

Dennoch bleibt ein theoretisches Restrisiko bestehen, solange mit menschlichem Blut gearbeitet wird. Probleme bereiten beispielsweise noch sogenannte »nichtbehüllte« Viren wie das Parvovirus B19. Das humane Parvovirus B19 ist ein häufig auftretendes DNA-Virus, das für die Kinderkrankheit Ringelröteln verantwortlich ist und möglicherweise Arthritis auslöst.⁶⁻¹¹ Darüber hinaus musste man aus der Vergangenheit lernen, dass neue, bisher beim Menschen unbekannt und entsprechend zunächst unerkannte Krankheitserreger auftreten können. HIV beispielsweise wurde 1983 erstmalig isoliert,²¹ das Hepatitis-C-Virus wurde erst vor 20 Jahren entdeckt.^{22,23}

So stellte man auch erst 1996 fest, dass der Rinderwahnsinn (beim Menschen als Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJD) bekannt) über sogenannte Prionen auf den Menschen übertragbar ist. Und erst Anfang 2009 teilten die Gesundheitsbehörden von Großbritannien mit, dass ein verstorbener 70-jähriger Hämophiliepatient an der neuen Variante der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung (vCJD) erkrankt war. Der Patient zeigte bis zu seinem Tod keine Symptome einer vCJK und verstarb aufgrund anderer Ursachen. Da der Mann Ende der 90er-Jahre ein Faktor-VIII-Konzentrat verwendete, bei dessen Herstellung auch das Plasma eines Spenders verwendet wurde, der später an vCJD erkrankte, kann als wahrscheinliche Ursache der Erkrankung die Übertragung der Prionen durch Faktorkonzentrate angenommen werden.²⁴

Nach wie vor muss man daher auf neue Krankheitserreger gefasst sein, damit diese rechtzeitig erkannt und eliminiert werden können. Die Frage, ob das die bisher angewandten und bekannten Virusinaktivierungsverfahren leisten können, bleibt offen.

Unbehandelt führt die Hämophilie in schweren Fällen zu lebensbedrohlichen Situationen oder infolge von Gelenkblutungen zu frühzeitiger Invalidität, was die Lebensqualität und Lebenserwartung einschränken kann.³

Erst seit wenigen Jahrzehnten kann die Krankheit adäquat behandelt werden.



PLASMATISCHE FAKTORPRÄPARATE



Plasma von tausenden von Spendern

Ausgewählte Spender, selektiert durch Screeningprogramme

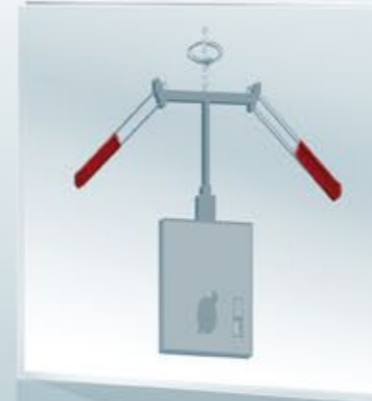


Umfangreiche Tests auf verschiedene Viren

Unter anderem: Humanes Immunschwächevirus (HIV), Hepatitis-B-Virus (HBV), Hepatitis-C-Virus (HCV), Hepatitis-A-Virus (HAV)



Plasmapool



Weitere Konzentration von Proteinen aus dem Blutplasma



Aufwendige, schonende Aufreinigung und Virusinaktivierung der aus dem Blutplasma isolierten Rohfaktoren FVIII und FIX



Fertiger Faktor zur Verabreichung

- Produkt hoher Sicherheit
Es besteht ein Restrisiko, dass neue, bisher unbekannte Krankheitserreger aus menschlichem Blut den Aufreinigungs- bzw. Virusinaktivierungsprozess überstehen.²⁵
- Produkt enthält zusätzlich zum gewünschten Faktor verschiedene hochmolekulare Substanzen, wie z. B. Spuren von anderen Gerinnungsfaktoren oder Albumin.²⁶

WAS IST EIGENTLICH BIOTECHNOLOGIE, WAS IST GENTECHNIK?

Die Biotechnologie wird für die technische Produktion von biologischen Stoffen (»Substanzen des Lebens«) eingesetzt.^{27,28}

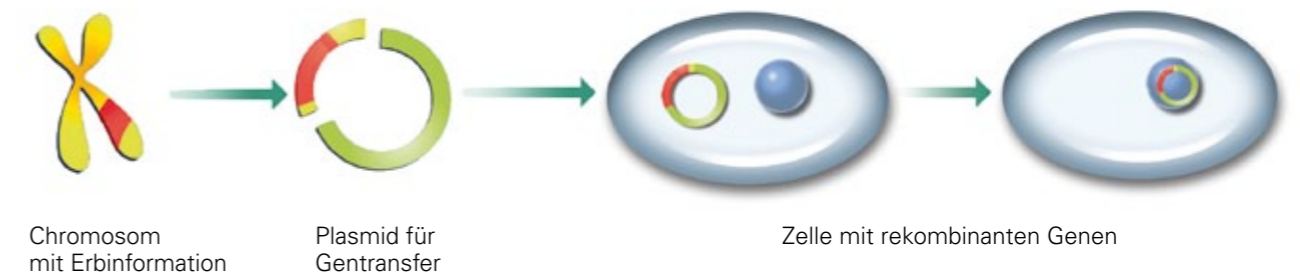
Die klassische Biotechnologie ist uns bestens bekannt, beispielsweise durch die seit Jahrtausenden praktizierte Herstellung von Joghurt, Käse, Bier oder Brot. Im Gegensatz dazu nutzt die moderne Biotechnologie gezielte Verfahren, um gewünschte Produkte zu erhalten. Hier kommt die Gentechnik ins Spiel, die Organismen gezielt verändert und so die Herstellung sehr komplexer Produkte und Wirkstoffe, wie z. B. die Gerinnungsfaktoren, in biotechnologischen Verfahren ermöglicht.

Grundsätzlich bezeichnet Gentechnik die Methode, das Erbgut verschiedener Organismen miteinander zu kombinieren (daher auch der Begriff »rekombinant«). Einzelne Träger von Erbinformationen, sogenannte Gene, werden in eine Zelle eingeschleust. Zellen mit der fremden Erbinformation werden anschließend vermehrt und können so z. B. zur Herstellung von Medikamenten eingesetzt werden.

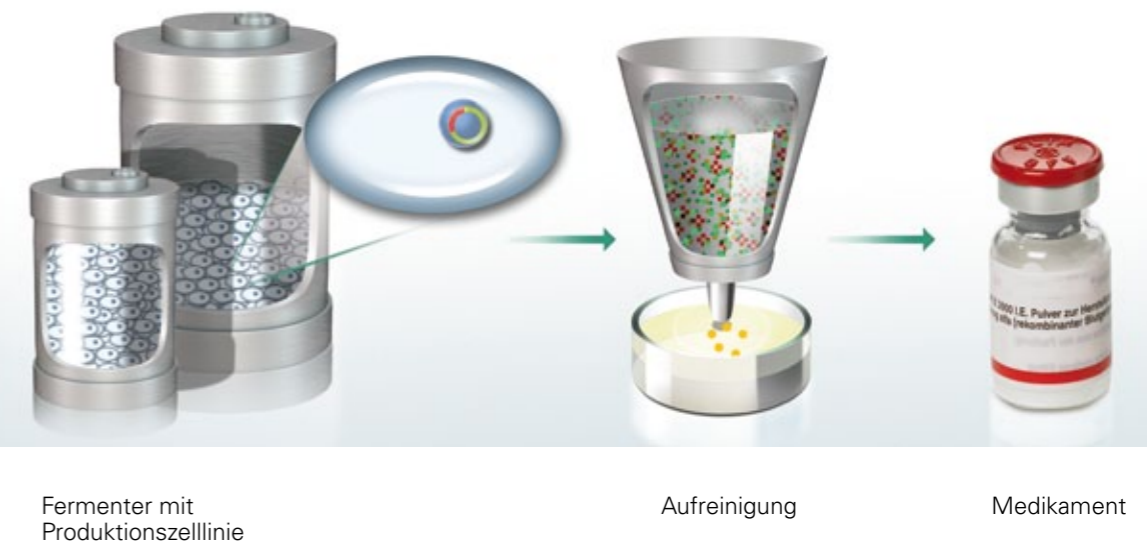
Genau genommen verändern Züchter seit Tausenden von Jahren Erbgut: Züchtung ist eine kontrollierte Fortpflanzung, die meist zum Ziel hat, bestimmte Erbmerkmale wie Größe, Farbe, Geschmack, Verhalten usw. zu verstärken oder zu unterdrücken. Dazu werden gezielt Individuen mit den gewünschten Eigenschaften miteinander gekreuzt. Das Ergebnis ist eine dauerhafte Veränderung des Erbguts – eine genetische Umformung. Während der Züchter jedoch mit einer gehörigen Portion Zufall leben muss, kann der Gentechniker das Erbgut gezielt verändern.

Die Gentechnik kann daher als Teilbereich der modernen Biotechnologie betrachtet werden, die bei Bedarf zur gezielten Veränderung von Organismen eingesetzt wird. Diese können dann im biotechnologischen Verfahren neue, vorteilhafte Produkte hervorbringen.

Die **Gentechnik** ermöglicht den gezielten Eingriff in das Erbgut von Lebewesen. Durch Veränderung und Neuzusammensetzung der DNA als Träger der Erbinformation und deren Transfer in geeignete Organismen können Bakterien oder auch höhere Organismen wie Pilze oder tierische Zellen, etwa CHO-Zellen, zur Herstellung von Medikamenten eingesetzt werden.



Mit Hilfe der modernen **Biotechnologie** werden die gentechnisch veränderten Organismen in Fermentern oder Bioreaktoren bei Bedingungen kultiviert, die eine Vermehrung der Zellmasse und eine optimale Produktion des gewünschten Produktes ermöglicht.



BEISPIELE AUS DER BIOTECHNOLOGIE

Derzeit sind in Deutschland weit mehr als 100 Arzneimittel zugelassen, die biotechnologisch hergestellt werden. Und die Bedeutung der Biotechnologie in diesem Bereich nimmt zu.



Diabetes – Insulin

Diabetiker beispielsweise mussten früher mit Insulin von Rindern und Schweinen behandelt werden. Das löste in vielen Fällen Unverträglichkeiten aus. Dank Gentechnik ist es mit Hilfe von Bakterien heute möglich, »humanidentisches« Insulin herzustellen – ein großer Fortschritt für die Behandlung der chronischen Krankheit und eine enorme Verbesserung für die Lebensqualität der betroffenen Patienten.²⁹

Rheumatoide Arthritis

Im Verlauf der rheumatoiden Arthritis kommt es zu einer fortschreitenden Gelenkzerstörung und zunehmenden Behinderung, die mit einer nachhaltigen Verminderung der Lebensqualität einhergeht. Neue, biotechnologisch hergestellte Medikamente unterscheiden sich von den traditionell in der Rheumatologie angewendeten Medikamenten dadurch, dass sie gezielt in die Krankheitsentstehung eingreifen. Dies geschieht beispielsweise durch die Blockade von Entzündungsmediatoren. Die modernen biotechnologischen Medikamente sind in der Lage, die Symptome einer rheumatoiden Arthritis im günstigsten Fall vollständig zu unterdrücken, das Fortschreiten der entzündlichen Gelenkzerstörung zu verlangsamen und bei einem Teil der Patienten sogar komplett zu hemmen.³⁰

Krebsbehandlung mit monoklonalen Antikörpern

Der Nobelpreis für Medizin wurde 1984 an Cézair Milstein und Georges Köhler für die bahnbrechenden Arbeiten zur Entwicklung der monoklonalen Antikörper verliehen.³¹ Hierbei produzieren gentechnisch veränderte Zellen außerhalb des Körpers unbegrenzt einen bestimmten Antikörper (ein Eiweiß), der im Körper an spezifischen Stellen bindet und eine Reaktion hervorrufen oder unterbinden kann. Ein wesentliches Einsatzgebiet ist die Krebsbehandlung. Hier können zielgerichtet neue Therapieformen entwickelt und neue Heilungschancen für viele Krebsarten eröffnet werden.

Impfstoffe

Bei einer Impfung geht es darum, den Körper durch die Begegnung mit einem abgeschwächten bzw. veränderten Erreger gegen die aktive Form des Erregers zu wappnen. Häufig wurden die Erreger aus dem Blut infizierter Patienten gewonnen – für die Mitarbeiter der Blutspendeeinrichtungen eine gefährliche Arbeit. Heute können diese Impfstoffe gentechnisch außerhalb des menschlichen Körpers hergestellt werden. Inzwischen sind einige rekombinante Impfstoffe im Einsatz. Neben einem Impfstoff gegen Hepatitis B steht seit neuestem auch ein Präparat gegen Gebärmutterhalskrebs zur Verfügung. Gegen Malaria, AIDS, Hepatitis C und Pfeiffersches Drüsenfieber – vier Krankheiten, die sich bisher hartnäckig jeder Schutzimpfung entzogen haben – setzen die Impfstoffentwickler ebenfalls auf den Einsatz neuer Impfstoffkandidaten mit rekombinanten Proteinen.³²

Landwirtschaft

Gentechnik wird auch angewandt, um landwirtschaftliche Erträge, z.B. in trockenerem Klima, zu steigern oder die Pflanze so zu verändern, dass sie noch besser zum Nahrungsmittel oder Industrierohstoff geeignet ist. Ein Beispiel ist der häufig zitierte »Goldene Reis«.^{33,34} Dank eingeschleuster Gene der Narzisse produziert diese Sorte Provitamin A, das bei Verzehr in Vitamin A umgewandelt wird. Gerade in der Dritten Welt leiden viele Menschen an Vitamin-A-Mangel. Mit dem »Goldenen Reis« kann folgenschweren Mangelerscheinungen vorgebeugt werden.

REKOMBINANTE FAKTORPRÄPARATE

Die biotechnologische Herstellung der rekombinanten Faktorpräparate erfolgt außerhalb des menschlichen Körpers. Die Hauptquelle möglicher Krankheitserreger ist damit von vornherein ausgeschlossen.

Zur Produktion der rekombinanten Gerinnungsfaktoren VIII und IX werden meistens CHO-Zelllinien herangezogen. Es handelt sich hierbei um Zellen aus dem Eierstock (Ovar) des chinesischen Hamsters, die schon seit Jahrzehnten in der Forschung und Verfahrenstechnik für die Herstellung von rekombinanten Eiweißstoffen verwendet werden.

Nach Transfer des Gens für den entsprechenden Faktor in die CHO-Zellen werden die Zellen, die das Gen aufgenommen haben, vermehrt und man erhält schließlich einen Stamm an CHO-Zellen, welche den Bauplan für den gewünschten Faktor enthalten. Diese Zellen werden auch als Master-Zellbank bezeichnet.

Von diesen Zellen wird dann eine Produktionszelllinie für die Produktion des Faktors hergestellt. Diese Produktionszelllinie wird sorgfältig gepflegt und regelmäßig auf Verunreinigungen und Krankheitserreger untersucht.

Durch anschließende Vermehrung im Bioreaktor können so aus bis zu mehreren tausend Litern Fermentationsmedium größere Mengen der wertvollen Proteine in einem komplizierten Aufreinigungsprozess gewonnen werden.

Weil diese Zellen in einer völlig sterilen Umgebung herangezogen werden, kann eine Neuinfektion mit Krankheitserregern jeder Art ausgeschlossen werden. Bis Anfang der 2000er-Jahre waren allerdings noch tierische und humane Eiweiße zur Ernährung der Zellen und zur Stabilisierung der erzeugten Faktoren erforderlich. Auch diese Stoffe können heute ersetzt werden, sodass die neueren rekombinanten Faktorkonzentrate im gesamten Herstellungsprozess frei vom Zusatz humaner und tierischer Substanzen sind. Um alles derzeit Mögliche zu tun, was zu einer höchstmöglichen Sicherheit beiträgt, werden auch diese Produkte ebenso aufwendig filtriert, aufgereinigt und virusinaktiviert wie die aus Plasma gewonnenen Präparate.

Die neueren rekombinanten Faktoren zeichnen sich durch die Kombination von vier Sicherheitsschleusen aus:

- 1** Der Faktor wird in sterilen Zellkulturen, die frei von Krankheitserregern sind, erzeugt.
- 2** Auf den Zusatz von humanen und tierischen Eiweißprodukten in der Produktion und Aufreinigung wird verzichtet.
- 3** Aufwendige mehrstufige Aufreinigungsverfahren führen zu sehr reinen Produkten.
- 4** Auch wenn das Herstellungsverfahren kein virales Infektionsrisiko in sich birgt, erfolgt zusätzlich eine Virusinaktivierung.

REKOMBINANTE FAKTORPRÄPARATE



Isolierung der Gene von Faktor VIII und IX



Einschleusung der Gene in CHO-Zellen



Nach Erstellung einer standardisierten Produktionszelllinie Vermehrung der Zellen im Bio-reaktor

Bei den neueren Faktoren ohne Verwendung von tierischen und humanen Eiweißen



Ernte des von den Zellen hergestellten Faktors

Trennung des Proteins im Fermentermedium von der Zellmasse



Aufwendige, schonende Aufreinigung des rekombinanten Faktors



Fertiger Faktor zur Verabreichung

- Produkt hoher Sicherheit
Ursprung des Herstellungsprozesses birgt kein Kontaminierungsrisiko aus menschlichem Blut in sich²⁵
- Produkt hoher Reinheit²⁶

GLOSSAR

BIOTECHNOLOGIE – Als Biotechnologie bezeichnet man die technische Umsetzung von Erkenntnissen aus der Biologie, Biochemie und Mikrobiologie zur Produktion von biologischen Stoffen. Die klassische Biotechnologie ist uns bestens bekannt, beispielsweise durch die seit Jahrtausenden praktizierte Herstellung von Joghurt, Käse, Bier oder Brot. Die moderne Biotechnologie arbeitet u. a. gezielt mit gentechnisch veränderten, sogenannten rekombinanten Organismen, mit deren Hilfe die Herstellung sehr komplexer Wirkstoffe, wie z.B. der Gerinnungsfaktoren, in größeren Mengen und auf einem sicheren Weg ermöglicht wird.

BLUTPLASMA – Flüssiger, zellfreier Teil des Blutes mit einem Volumenanteil von ca. 55%. Es kann durch Zentrifugieren von Blut gewonnen werden, enthält noch alle Gerinnungsfaktoren und ist das Ausgangsmaterial für die Plasmafraktionierung.

CHO-ZELLEN – CHO ist die Abkürzung für »chinese hamster ovary« und steht für sogenannte permanente Zelllinien, die aus den Eierstöcken des chinesischen Hamsters hervorgegangen sind. Als Säugetierzellen eignen sich die CHO-Zellen besonders gut für die gezielte gentechnische Veränderung mit dem Ziel der biotechnologischen Herstellung komplexer Wirkstoffe und Medikamente. Für die Herstellung der innovativsten Faktorpräparate werden optimierte CHO-Zelllinien, die ohne Zusatz von tierischem oder humanem Eiweiß auskommen, eingesetzt.

CJK – Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (engl. CJD=Creutzfeldt-Jakob-Disease), eine beim Menschen sehr seltene Krankheit, die durch sogenannte Prionen, also veränderte Eiweiße, hervorgerufen wird und zu einer Degeneration des Gehirns und schließlich zum Tode führt. Eine Variante, die vCJD, steht mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit im Zusammenhang mit dem Verzehr von BSE-verseuchtem Rindfleisch (BSE = Bovine spongiforme Enzephalopathie, auch Rinderwahn genannt).

GENTECHNIK – Aus der klassischen Genetik und der Molekularbiologie hat sich die Gentechnik entwickelt. Durch den gezielten Eingriff in das Erbgut ermöglicht die Gentechnik die Neuzusammenstellung der Erbinformation, die sogenannte rekombinante DNA, die dann in bestimmte Organismen eingeschleust werden kann. Diese gentechnisch veränderten Organismen, z.B. CHO-Zellen, die die Erbinformation zur Synthese von Gerinnungsfaktor FVIII oder FIX tragen, können in Bioreaktoren vermehrt und zur biotechnologischen Herstellung des gewünschten Stoffes gebracht werden.

HÄMOPHILIE – Die Hämophilie ist eine Erbkrankheit, die mit einer erhöhten Blutungsneigung einhergeht. Ursache ist das Fehlen von bestimmten körpereigenen Eiweißen, den sogenannten Gerinnungsfaktoren. Bei der Hämophilie kann daher nach einer Verletzung kein stabiles Blutgerinnsel gebildet werden. Die Folge davon ist, dass im Gegensatz zu Gesunden die Blutungen länger andauern und es unbehandelt zu gefährlichen Blutverlusten kommen kann. Die häufigsten Blutungen sind jedoch Blutergüsse in Gelenken und Muskeln, die zu Langzeitschädigungen führen können. Blutungen können bei Verletzungen, aber auch spontan, d.h. ohne erkennbare Ursache, auftreten.

Es werden zwei Formen der Hämophilie unterschieden: Hämophilie A = Mangel an Faktor VIII, Hämophilie B = Mangel an Faktor IX. An Hämophilie erkranken fast ausschließlich Männer aller Bevölkerungsgruppen, da die Erkrankung durch ein defektes Gen verursacht wird, das auf dem X-Chromosom liegt (X-chromosomal-rezessiver Erbgang). Die Hämophilie kann heute durch die Gabe von fehlendem Faktor VIII oder IX gut therapiert werden, und der betroffene Patient kann ein weitgehend normales Leben führen.

HEPATITIS B – durch das Hepatitis-B-Virus, HBV, verursachte Infektionskrankheit. Neben Hepatitis C weltweit die häufigste Ursache für chronische Lebererkrankungen.

HEPATITIS C – Durch ein Virus verursachte Infektionskrankheit, die mit hohem Anteil chronisch verläuft und zu schweren Leberschädigungen führen kann. Das Hepatitis-C-Virus, HCV, ist ein behülltes Einzelstrang-RNA-Virus.

HIV – Humanes Immundefizienz-Virus (engl. human immunodeficiency virus), gehört zur Familie der Retroviren. Eine Ansteckung führt nach einer meist mehrjährigen Inkubationszeit zu AIDS, einer derzeit noch unheilbaren Immunschwächekrankheit.

KRYOPRÄZIPITAT – Dichter Niederschlag, der nach dem Wiederauftauen von tiefgefrorenem Blutplasma durch Zentrifugation vom übrigen Plasma getrennt werden kann. Das Präzipitat enthält Faktor VIII, der Überstand – das sogenannte kryoarme Plasma – enthält Faktor IX.

PARVOVIRUS B19 – Löst bei Kindern Ringelröteln aus, bei Erwachsenen können die Gelenke betroffen sein. Eine Infektion während der Schwangerschaft kann zu schweren Komplikationen bis hin zum Abort führen. Es ist ein kleines Einzelstrang-DNA-Virus aus der Familie der Parvoviren.

PLASMAFRAKTIONIERUNG – Blutplasma ist der zellfreie, flüssige Teil des Blutes nach Abtrennung aller zellulären Bestandteile. Durch eine sogenannte Plasmapherese kann dieser flüssige Teil direkt als Plasma bei einer (Blut-)Plasmaspende gewonnen werden. Die Blutkörperchen können dem Körper des Spenders zurückgeführt werden. Das Plasma selbst enthält alle Gerinnungsfaktoren und viele weitere begehrte Proteine, die dann im Rahmen der Plasmafraktionierung isoliert, separiert und aufgereinigt werden.

PLASMATISCH – Aus Blutplasma isoliert.

REKOMBINANTE DNA – Als rekombinante DNA (Desoxyribonukleinsäure) bezeichnet man ein durch gentechnische Methoden aus der Erbinformation verschiedener Organismen neu zusammengesetztes DNA-Molekül.

Referenzen

1. Bolton-Maggs PH, Pasi KJ. Haemophilias A and B. *Lancet*. 2003; 361: 1801–1809.
2. Mannucci PM, Tuddenham EG. The hemophilias – from royal genes to gene therapy. *N Engl J Med*. 2001; 344: 1773–1779.
3. Von Depka Prondzinski M, Kurnik K. Hämophilie – ein Leitfaden für Patienten. Trias-Verlag. 2008. S. 45 f.
4. Key NS, Negrier C. Coagulation factor concentrates: past, present, and future. *Lancet*. 2007; 370: 439–448.
5. Farrugia A, for the WFH. Guide for the assessment of clotting factor concentrates for the treatment of hemophilia 2008. Im Internet als Download unter www.wfh.org.
6. Colvin BT, Astermark J, Fischer K et al. European principles of haemophilia care. *Haemophilia* 2008; 14: 361–374.
7. Schneider B, Becker M, Brackmann HH, Eis-Hubinger AM. Contamination of coagulation factor concentrates with human parvovirus B19 genotype 1 and 2. *Thromb Haemost*. 2004; 92: 838–845.
8. Bartolomei Corsi O, Azzi A, Morfini M et al. Human parvovirus infection in haemophiliacs first infused with treated clotting factor concentrates. *J Med Virol*. 1988 Jun; 25: 165–170.
9. Santagostino E, Mannucci PM, Gringeri A et al. Transmission of parvovirus B19 by coagulation factor concentrates exposed to 100°C heat after lyophilisation. *Transfusion* 1997; 37: 517–522.
10. Rubinstein R, Karabus CD, Smuts H et al. Prevalence of human parvovirus B19 and TT virus in a group of young haemophiliacs in South Africa. *Haemophilia* 2000; 6: 93–97.
11. Zakrzewska K, Azzi A, De Biasi E et al. Persistence of parvovirus B19 DNA in synovium of patients with haemophilic arthritis. *J Med Virol*. 2001; 65: 402–407.
12. Pipe SW. Recombinant clotting factors. *Thromb Haemost*. 2008; 99: 840–850.
13. Keeling D, Tait C, Makris M. Guideline on the selection and use of therapeutic products to treat haemophilia and other hereditary bleeding disorders. 2008; 14: 671–684.
14. Fachinformation Pfizer Pharma Moroctocog alfa, März 2010.
15. Harrison S, Adamson S, Bonam, D et al. The manufacturing process for recombinant factor IX. *Semin Hematol*. 1998; 35(Suppl 2): 4–10.

16. Edwards J, Kirby N. Recombinant coagulation factor IX. In: Walsh G, Murphy B (eds). *Biopharmaceuticals. An Industrial Perspective*. Dordrecht, Netherlands, Kluwer Academic Publishers 1999; 73–108.
17. Zeitschrift des Deutschen Chirurgenvereins von 1849.
18. Busch MP, Young MJ, Samson SM et al. Risk of human immunodeficiency virus (HIV) transmission by blood transfusions before the implementation of HIV-1 antibody screening. The Transfusion Safety Study Group. *Transfusion*. 1991; 31: 4–11.
19. Brooker M. Registry of clotting factor concentrates – eighth edition: World Federation of Hemophilia; 2008. Im Internet als Download unter www.wfh.org.
20. Moroctocog alfa (recombinant coagulation factor VIII). Summary of Product Characteristics, Wyeth Pharmaceuticals Inc.
21. Barré-Sinoussi F, Montagnier L et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*. 1983; 220: 868–871.
22. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ et al. Isolation of a DNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359–362.
23. Kuo G, Choo QL, Alter HJ. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989; 244: 362–364.
24. HPA. vCJD abnormal prion protein found in a patient with haemophilia at postmortem (press release). London: Health Protection Agency. 17 February 2009. Im Internet als Download unter www.hpa.org.uk.
25. Ludlam CA, Powderly WG, Bozzette S et al. Clinical Perspective of Emerging Pathogens in Bleeding Disorders. *Lancet* 2006; 367: 252–261.
26. Bond M, Jankowski M, Patel H et al. Biochemical characterization of recombinant factor IX. *Semin Hematol*. 1998; 35 (2 Suppl. 2): 11–17.
27. Renneberg R, Süßbier D: *Biotechnologie für Einsteiger*. Spektrum Akademischer Verlag 2005.
28. Ulber R, Soyez K. 5 Jahre Biotechnologie: Vom Wein zum Penicillin. *Chemie in unserer Zeit* 2004; 38, 172–180.
29. Helmut Schatz (Hrsg.): *Diabetologie kompakt*. 4. Auflage 2006.
30. Manger B, Michels H, Nüsslein H et al. und die Kommission Pharmakotherapie der DGRh. Neufassung der Empfehlungen der DGRh zur Therapie mit Tumornekrosefaktor-hemmenden Wirkstoffen bei entzündlich-rheumatischen Erkrankungen (Stand März 2006). *Z Rheumatol* 2007; 66: 72–75.
31. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256: 495–497.
32. Spiess H, Heiniger U. *Impfkompendium*. Thieme Verlag 2005
33. Ye X, Al-Babili S, Klöti A et al. Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science* 2000; 287: 303–305.
34. Paine JA, Shipton CA, Chaggar S et al. Improving the nutritional value of Golden Rice through increased pro-vitamin A content. *Nature Biotech*. 2005; 23: 482–487.

FAKTOREN IM VERGLEICH

Rekombinante Gerinnungsfaktoren



Herstellung außerhalb des Körpers: steril und frei von Krankheitserregern

Ausgangsmaterial



Herstellungsprozess ohne Zusatz von humanen oder tierischen Substanzen

Produktion und Aufreinigung

Intensiver Aufreinigungs- und Virusinaktivierungsprozess



- **Produkt hoher Sicherheit**²⁵
Ursprung des Herstellungsprozesses birgt kein Kontaminierungsrisiko aus menschlichem Blut in sich
- **Produkt hoher Reinheit**²⁶

Fertiger Faktor zur Verabreichung

Plasmatische Gerinnungsfaktoren



Blut einer hohen Anzahl von Spendern

Ausgangsmaterial



Kontakt mit humanen oder tierischen Substanzen durch den Ursprung gegeben


Produktion und Aufreinigung

Intensiver Aufreinigungs- und Virusinaktivierungsprozess



- **Produkt hoher Sicherheit**²⁵
Es besteht ein Restrisiko, dass neue, bisher unbekannte Krankheitserreger aus menschlichem Blut den Aufreinigungs- bzw. Virusinaktivierungsprozess überstehen
- **Produkt enthält zusätzlich zum gewünschten Faktor verschiedene hochmolekulare Substanzen**²⁶

Fertiger Faktor zur Verabreichung



Unterschiede bei verschiedenen Gerinnungsfaktoren basieren auf unterschiedlichen Herstellungsprozessen. Diese zu verstehen, kann helfen, individuell für sich die richtige Therapieentscheidung zu treffen.

Gerinnungsfaktoren können aus menschlichem Blut gewonnen oder biotechnologisch (rekombinante Faktoren) ohne den Zusatz von menschlichen oder tierischen Substanzen hergestellt werden. In der Medizin kann die Biotechnologie mittlerweile auf über zwei Jahrzehnte Erfahrung zurückblicken – dennoch wirft der komplexe Herstellungsprozess oft Fragen auf. Andererseits wird bei Faktoren plasmatischer Herkunft immer wieder die Frage nach der Sicherheit bezüglich viraler Verunreinigungen gestellt.

Die vorliegende Broschüre soll einen Überblick über die Forschungsgeschichte und detaillierte Informationen zu den beiden Herstellungsverfahren geben.

