



Aktivierung von Zellen an der Grenzfläche von Blut und Biomaterialien

Viktoria Weber (MLS)

Veröffentlicht: 20. März 2024

Abstract

Advanced medical care utilizes a wide range of biomaterials, which are in permanent or transient contact with blood or tissue. The application of biomaterials ranges from implantable devices and scaffolds for tissue engineering to devices for extracorporeal therapies, including hemodialysis and apheresis. Upon contact with blood, biomaterials are immediately coated by a dynamic layer of proteins (“protein corona”), which constitutes a new interface between the biomaterial and the blood. Depending on the characteristics of the biomaterial, adsorbed proteins can undergo conformational changes, and cells can be activated to release extracellular vesicles. This may ultimately result in the activation of the contact, complement, and coagulation systems, and trigger immunological responses with potentially detrimental consequences both for the host and for the function of the biomaterial.

Analyzing the interactions of blood and tissue with biomaterials at this interface is an essential prerequisite for the development of surfaces with high biocompatibility while maintaining their function.

Resümee

In der Medizin wird ein breites Spektrum von Biomaterialien eingesetzt. Darunter versteht man (meist synthetische) Polymere, die ständig oder vorübergehend mit Blut oder Gewebe in Kontakt sind. Die Anwendung von Biomaterialien reicht von implantierbaren Geräten und „Scaffolds“ für die Gewebezüchtung bis hin zu Geräten für extrakorporale Therapien, einschließlich Hämodialyse und Apherese. Bei Kontakt mit Blut bildet sich auf dem jeweiligen Biomaterial in kürzester Zeit eine Schicht aus Proteinen, die als „Protein-Korona“ bezeichnet wird und deren Zusammensetzung sich dynamisch ändert. Diese bildet eine neue Grenzfläche zwischen dem jeweiligen Biomaterial und dem Blut und bestimmt in der Folge die Bindung von Zellen an die Oberfläche. Je nach den Eigenschaften des Biomaterials können die adsorbierten Proteine an der Oberfläche Konformationsänderungen erfahren, und es kann zur Aktivierung von Zellen kommen, was unter anderem zur Freisetzung extrazellulärer Vesikel führt. Dies kann eine Aktivierung des Kontakt-, Komplement- und Gerinnungssystems bewirken und immunologische Reaktionen mit potenziell schädlichen Folgen sowohl für den Organismus als auch für die Funktion des Biomaterials auslösen.

Die Analyse der Interaktionen von Blut und Gewebe mit Biomaterialien an dieser Grenzfläche stellt eine wesentliche Voraussetzung für die Entwicklung von Oberflächen mit hoher Bioverträglichkeit bei Erhaltung ihrer Funktion dar.

Keywords/Schlüsselwörter

Adsorption, biomaterials, biocompatibility, blood, dialysis, endothelium, extracellular vesicles, coagulation, complement activation, thrombocytes

Adsorption, Biomaterialien, Bioverträglichkeit, Blut, Dialyse, Endothel, extrazelluläre Vesikel, Gerinnung, Komplementaktivierung, Thrombozyten

Biomaterialien und Bioverträglichkeit

Biomaterialien sind (meist) synthetische Materialien, welche in der Medizin für therapeutische oder diagnostische Zwecke Verwendung finden und die in direktem Kontakt mit Gewebe oder mit Körperflüssigkeiten stehen. Bei ihrer Verwendung treten diese Materialien in chemische, physikalische und biologische Wechselwirkungen mit ihrer Umgebung.

Das Spektrum für die Anwendung von Biomaterialien im medizinischen Bereich ist umfangreich und erweitert sich durch den Einsatz neuer Technologien, wie den 3D-Druck. Biomaterialien können biomimetisch wirken, also natürlich ablaufende Prozesse nachahmen oder molekulare Erkennungsstellen bereitstellen, die die Anheftung von Molekülen oder Zellen ermöglichen. Ebenso können sie die mechanischen Eigenschaften ihrer Umgebung imitieren und auf diese Weise das Wachstum und die Differenzierung von Zellen fördern. Sie kommen beispielsweise als Nahtmaterialien und zur Wundabdeckung, für den Gelenks-, Knochen-, Zahn- und Gewebersatz, für Stents, Implantate, sowie für Schlauchsysteme, Filter und Adsorbermaterialien für die extrakorporale Blutreinigung (Hämodialyse, therapeutische Apherese) zum Einsatz. Auf diese letztgenannte Gruppe von Biomaterialien und auf ihre Wechselwirkung mit dem Blut soll hier näher eingegangen werden.

Werden Biomaterialien – etwa beim Kontakt mit Blut oder Gewebe - vom Organismus als fremd erkannt, so hat dies die Aktivierung körpereigener Abwehrmechanismen und Entzündungsreaktionen zur Folge. Daher ist die Bioverträglichkeit ein wesentliches Qualitätsmerkmal von Biomaterialien. Bioverträgliche Materialien verhalten sich im Körper neutral und rufen keine klinisch signifikante Abwehrreaktion, sei sie lokal oder systemisch, hervor (vgl. Klinkmann et al. 1984; Williams 2008; Gawaz et al. 1994). Entscheidend bei der Betrachtung der Bioverträglichkeit ist nicht nur die Eigenschaft einer bestimmten Komponente, sondern der Blick auf das Gesamtsystem. So kann sich etwa die Evaluierung der Bioverträglichkeit eines Dialysesystems nicht auf die Untersuchung der Bioverträglichkeit des Hämofilters beschränken, sondern muss alle relevanten Komponenten, wie Schlauchsysteme, Gerinnungshemmer und deren Zusammenwirken einschließen.

Bei der Entwicklung von Biomaterialien gilt es, sowohl deren Bioverträglichkeit als auch ihre Funktionalität zu berücksichtigen. Diese beiden Pole sind jedoch oftmals schwierig in Einklang zu bringen, weil etwa die Beschichtung eines Biomaterials mit dem Zweck, die Bioverträglichkeit zu verbessern, gleichzeitig die Adsorptionseigenschaften dieses Materials für bestimmte Zielsubstanzen und somit seine Funktionalität verschlechtern kann. Biomaterialien mit ausgezeichneter Funktionalität sind oftmals wenig bioverträglich und umgekehrt. Bei der Entwicklung von Biomaterialien handelt es sich daher häufig um eine Gratwanderung zwischen diesen beiden Anforderungen (vgl. Kizhakkedathu, Conway 2022).

Das Endothel als blutverträgliche Oberfläche

Das Endothel, die innerste Zellschicht unserer Blutgefäße, kann als Beispiel für eine optimal blutverträgliche natürliche Oberfläche gelten. Es bildet eine Barriere zwischen Blut und Gewebe und reguliert Transportvorgänge zwischen dem Blut und dem Gewebe ebenso wie die Adhäsion (Anheftung) zellulärer Blutbestandteile (Blutplättchen, weiße Blutzellen) (vgl. Aird 2007).

Unter physiologischen Bedingungen stellt das Endothel eine geschlossene, gerinnungshemmende Oberfläche dar. Die gerinnungshemmenden und anti-adhäsiven

Eigenschaften werden durch eine Reihe von Mechanismen aufrechterhalten, zu denen die Expression von Gerinnungshemmern an der Endotheloberfläche gehört. Außerdem ist das Endothel von einer Schicht bedeckt, die als Glykokalyx bezeichnet wird und aus sogenannten Glykosaminoglykanen besteht, hauptsächlich aus Heparansulfat. Dieses ist ein Analogon von Heparin, welches in der Medizin als Gerinnungshemmer, aber auch für die Beschichtung von Biomaterialien, wie etwa Stents, eingesetzt wird, um die Thrombusbildung zu vermeiden.

Aktivierungsvorgänge an der Grenzfläche zwischen Blut und Biomaterialien

Jedes Biomaterial, das mit Blut in Kontakt gebracht wird, tritt mit diesem unmittelbar in Wechselwirkung; diese Wechselwirkung kann nicht verhindert, sondern lediglich minimiert werden. Erster Schritt dieser Wechselwirkung ist die Bindung (Adsorption) verschiedener Proteine an die Oberfläche des Biomaterials. Diese Adsorption folgt einer Gesetzmäßigkeit, die nach ihrem Entdecker als Vroman-Effekt beschrieben ist (vgl. Vroman 1962). Demnach erfolgt im Fall einer komplexen Proteinmischung, wie sie im Blut und Plasma vorliegt, zunächst die Adsorption jener Proteine, die in höchster Konzentration vorliegen; diese werden in der Folge durch Proteine ersetzt, die eine höhere Bindungskraft (Affinität) zum jeweiligen Material aufweisen. Die Proteinschicht, die sich auf einem Biomaterial beim Kontakt mit Blut ausbildet, ist maßgeblich für die weitere Interaktion dieses Biomaterials mit seiner Umgebung. Durch die Adsorption von Proteinen, die innerhalb von Sekunden erfolgt, entsteht eine neue, sich dynamisch verändernde, biologisch aktive Oberfläche, die auch als Protein-Corona bezeichnet wird. In Abhängigkeit von den Eigenschaften des Biomaterials können sich bestimmte Proteine an dieser Oberfläche stark anreichern, sodass die Konzentrationen dieser Proteine an der Grenzfläche um ein Vielfaches höher sind als in ihrer Umgebung (Blut). Neben der chemischen Zusammensetzung beeinflussen auch Faktoren wie die Krümmung, die Ladung, oder die Rauheit der Oberfläche die Art und Zusammensetzung der Protein-Corona, man kann daher von einem materialspezifischen Protein-Fingerabdruck sprechen.

Auf die initiale Ausbildung der Proteinschicht auf der Materialoberfläche folgt die Bindung von Zellen, insbesondere von Blutplättchen (Thrombozyten). Ihre Adhäsion an Biomaterialien wird durch Integrine vermittelt, das sind Rezeptoren, die bestimmte auf der Biomaterialoberfläche gebundene Proteine, zum Beispiel Fibrinogen, erkennen. Die Erkennung erfolgt über eine spezifische Aminosäuresequenz, das sogenannte RGD-(Arginin-Glycin-Asparaginsäure)-Motiv. Die Interaktion mit der Oberfläche führt zu einer Aktivierung der Thrombozyten, die ihre Gestalt ändern und bestimmte Mediatoren freisetzen, welche ihre Adhäsion und Aggregation weiter verstärken. Die Aktivierung der Plättchen führt weiters zur Freisetzung extrazellulärer Vesikel, die gerinnungsfördernde Eigenschaften besitzen. Auch weiße Blutzellen (Leukozyten) adhäreren am Biomaterial, auch sie sezernieren extrazelluläre Vesikel, und ihre Interaktion mit gebundenen Plättchen verstärkt die Thrombusbildung an der Oberfläche. Welche Reaktionen auf molekularer Ebene an der Blut-Biomaterial-Grenzfläche ablaufen, wird letztlich von den Materialeigenschaften sowie den an der Oberfläche gebundenen Proteinen und bestimmt (Abbildung 1).

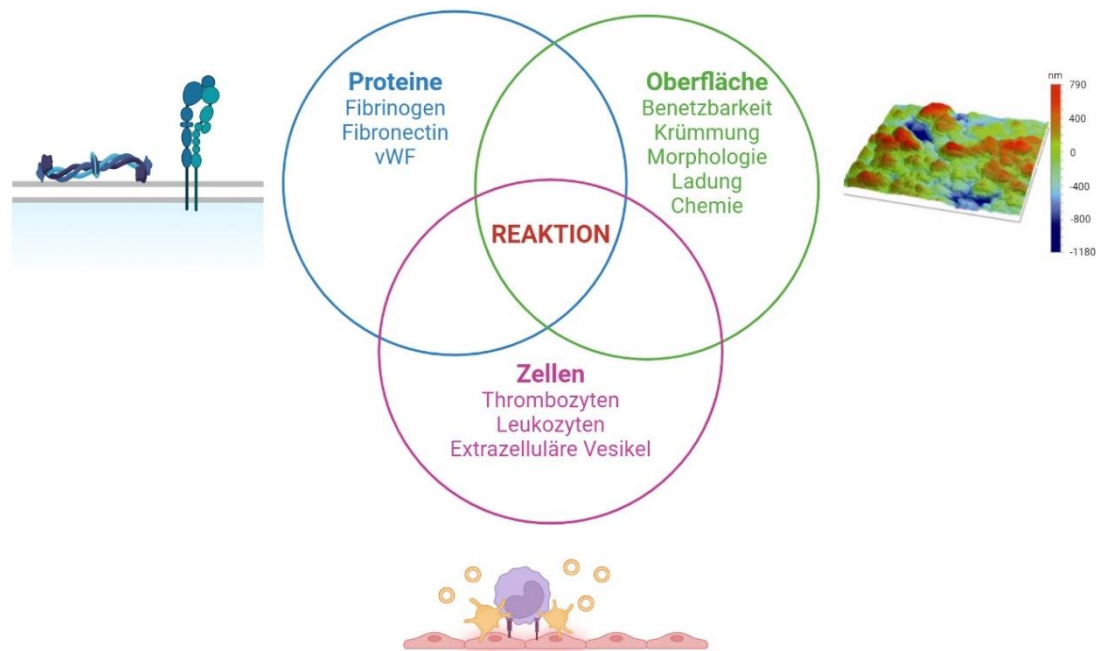


Abb. 1: Die Beschaffenheit von Biomaterialien („Oberfläche“) sowie deren Umgebung bestimmen die Bindung von Proteinen und nachfolgend die Anheftung und Aktivierung von Zellen am Biomaterial. vWF, von Willebrand-Faktor.

Worauf beruht nun die gerinnungsfördernde Aktivität extrazellulärer Vesikel? Diese liegt einerseits darin begründet, dass die Freisetzung von Vesikeln zu einer veränderten Verteilung von Phospholipiden in der Lipiddoppelschicht führt, von der diese Vesikel umgeben sind. Phosphatidylserin wird an der Oberfläche der Vesikel exponiert und bietet gleichsam einen Anker für die Anheftung von Gerinnungsfaktoren. Diese können dadurch auf der Oberfläche der Vesikel interagieren, wodurch der Ablauf der Gerinnung wesentlich beschleunigt wird. Die Bindung und Aktivierung weißer Blutzellen induziert darüber hinaus die Expression von Tissue Factor, dem wichtigsten Auslöser der Gerinnung. Die Bindung und Aktivierung von Thrombozyten und Leukozyten auf der Biomaterialoberfläche und die damit verbundene Freisetzung extrazellulärer Vesikel kann somit sowohl den Funken (Tissue Factor) als auch den Brennstoff (Phosphatidylserin) für den Ablauf der Blutgerinnung liefern.

Adsorbierte Plasmaproteine auf Biomaterialoberflächen vermitteln nicht nur die Adhäsion von Blutzellen und die Aktivierung der Blutgerinnung (Abbildung 2), sondern induzieren auch die Aktivierung des Komplementsystems. Dieses System ist als Teil der angeborenen Immunität von herausragender Bedeutung bei der Abwehr von Infekten und vermittelt eine Vielzahl entzündlicher Reaktionen. Ähnlich wie das Gerinnungssystem - mit dem es phylogenetisch eng verbunden ist - wird das Komplementsystem durch eine Reihe von Substanzen aktiviert und reagiert in Form einer Aktivierungskaskade. Wie das Gerinnungssystem unterliegt auch das Komplementsystem einem komplexen System von Regulatoren.

Die Mechanismen der Komplementaktivierung an Biomaterialoberflächen wurden in der Literatur kürzlich ausführlich zusammengefasst (vgl. Poppelaars et al. 2018). Wesentlich ist, dass alle drei Wege der Komplementaktivierung – der klassische, der Lektin- und der alternative Weg – auch an Biomaterialoberflächen ablaufen können und dass, wie oben

bereits erwähnt, eine enge Interaktion zwischen dem Komplement- und dem Gerinnungssystem besteht; die beiden Systeme aktivieren und verstärken einander. Aktuelle Studien weisen überdies auf komplexe Interaktionen des Komplementsystems mit extrazellulären Vesikeln hin. Im Rahmen von Zuständen mit starker Aktivierung des Komplementsystems, wie beispielsweise bei schwerem Trauma oder während einer Sepsis, wurde eine erhöhte Anzahl extrazellulärer Vesikel im Blutkreislauf von Patienten nachgewiesen. Es gibt zunehmend Hinweise darauf, dass diese Vesikel wichtige Komplementfaktoren sowie Komplementregulatoren auf ihrer Oberfläche tragen, die die Entzündung und den Krankheitsverlauf beeinflussen (vgl. Karasu et al. 2018).

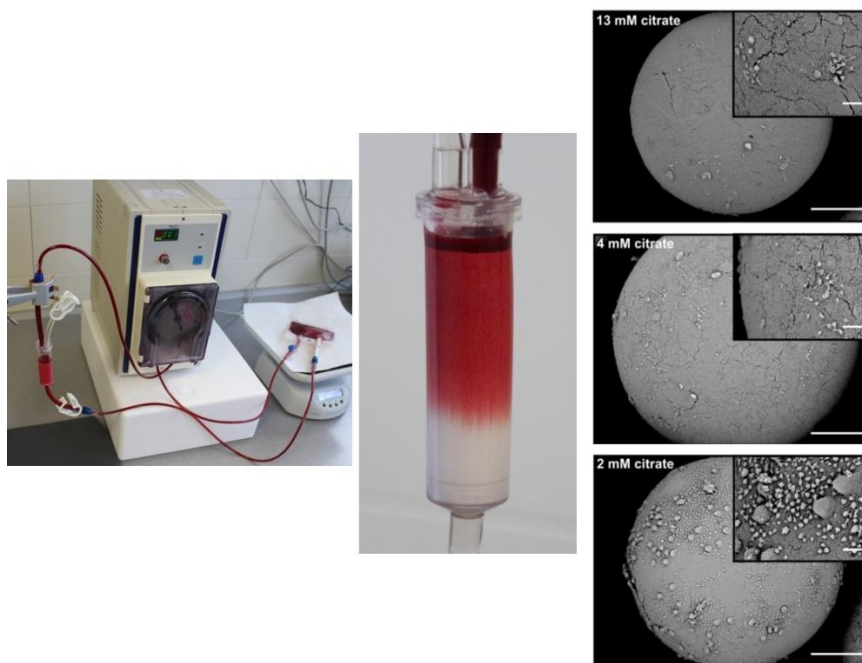


Abb. 2: Untersuchung der Zelladhäsion an Adsorberpolymeren in Abhängigkeit von der Zitratkonzentration. Humanes Vollblut wurde in diesem Versuchsaufbau über ein Adsorberpolymer rezirkuliert und die Adhäsion und Aktivierung von Thrombozyten und Leukozyten elektronenmikroskopisch untersucht. Zitrat, das in extrakorporalen Verfahren als Gerinnungshemmer zum Einsatz kommt, unterdrückt konzentrationsabhängig die Aktivierung und Anheftung von zellulären Bestandteilen aus dem Blut und führt daher zu einer verbesserten Bioverträglichkeit.

Extrazelluläre Vesikel als Signalüberträger zwischen Zellen

Es war nun bereits in Zusammenhang mit der Gerinnungsaktivierung an Biomaterialoberflächen, aber auch mit der Vermittlung der Komplementaktivierung von extrazellulären Vesikeln die Rede. Dabei handelt es sich um eine heterogene Gruppe von Vesikeln im Größenbereich von etwa 30 bis 5000 nm, die von einer Membrandoppelschicht umgeben sind (Abbildung 3).

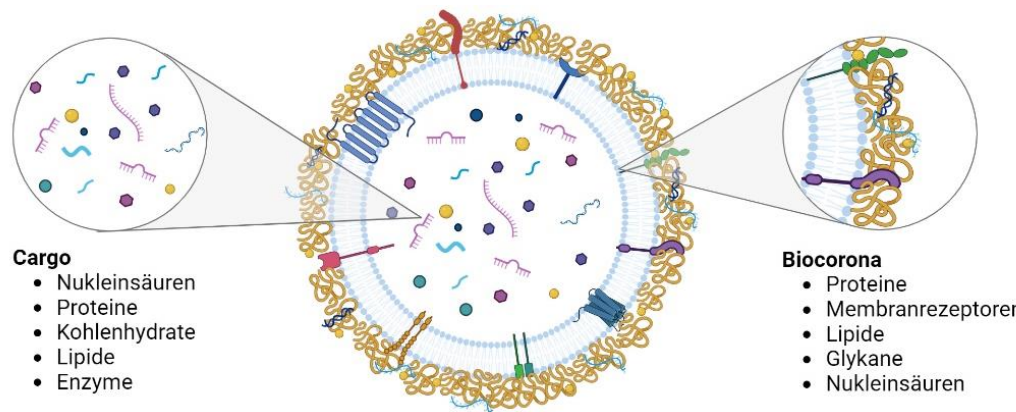


Abb. 3: Extrazelluläre Vesikel. Diese heterogene Gruppe submikroskopischer Vesikel im Blut ist von einer Lipiddoppelschicht umschlossen. An der Oberfläche tragen die Vesikel Moleküle, die als Marker für ihre zelluläre Herkunft dienen können. Vesikel transportieren ihre molekulare Fracht einerseits in ihrem Inneren, andererseits sind sie in biologischen Flüssigkeiten mit einer „Bio-Corona“ assoziiert, deren Zusammensetzung sich dynamisch verändert.

Diese Vesikel werden sowohl unter physiologischen als auch unter pathologischen Bedingungen von Zellen freigesetzt und wurden in allen Körperflüssigkeiten nachgewiesen. Bereits in den 1960er Jahren wurde beobachtet, dass Blutplättchen nach ihrer Aktivierung submikroskopisch kleine Partikel ins Blut abgeben. Diesen Partikeln wurde allerdings zunächst keine wesentliche biologische Bedeutung zugeschrieben, weshalb man sie auch als „Plättchenstaub“ bezeichnete (vgl. Wolf 1967). Ab Mitte der 1990er Jahre wurde ihre Bedeutung für die Informationsübertragung zwischen Zellen und ihr Anwendungspotential für Diagnostik und Therapie zunehmend erkannt. Im Jahr 2013 schließlich wurden James Rothman, Thomas Südhof und Randy Shekman für die Beschreibung des vesikulären Transports mit dem Nobelpreis für Medizin und Physiologie ausgezeichnet.

Die molekulare Fracht („Cargo“) extrazellulärer Vesikel besteht aus verschiedenen Biomolekülen. Die Beladung extrazellulärer Vesikel mit funktionellen Molekülen erfolgt gezielt, wobei die zugrundeliegenden Mechanismen noch nicht völlig geklärt sind. Darüber hinaus tragen extrazelluläre Vesikel Biomoleküle an ihrer Oberfläche, mit denen sie mit ihrer Umgebung interagieren. In Analogie zur weiter oben beschriebenen Protein-Corona auf Biomaterialien wird diese Schicht als „Bio-Corona“ bezeichnet. Es gibt Hinweise darauf, dass Proteine durch die Bindung an Vesikeloberflächen ihre Konformation und damit auch ihre funktionellen Eigenschaften ändern können. Eine wesentliche biologische Funktion extrazellulärer Vesikel ist die Aufrechterhaltung eines biologischen Gleichgewichtszustandes (Homöostase) auf zellulärer Ebene durch die Weitergabe ihrer Fracht an benachbarte oder an weiter entfernte Zellen. Andererseits tragen sie zum Krankheitsgeschehen, insbesondere bei thrombotischen Komplikationen bei, wie etwa in der Sepsis und im Verlauf von COVID-19 („Immunthrombose“).

An der Grenzfläche von Blut und Biomaterialien sind extrazelluläre Vesikel einerseits als Marker für die Aktivierung von Zellen von Interesse (z.B. Freisetzung von Vesikeln im Zuge der Plättchenaktivierung), aber auch auf Grund ihrer gerinnungsfördernden Eigenschaften.

Zusammenfassung und Ausblick

Die Reaktionen an der Grenzfläche von Blut und Biomaterialien sind hochkomplex und umfassen verschiedene interaktive zelluläre und molekulare Mechanismen.

Derzeit gängige Methoden zur Untersuchung der Bioverträglichkeit beruhen in erster Linie auf der Messung der Aktivierung verschiedener Stoffwechselwege (Gerinnung, Komplement), messen also systemische Auswirkungen einer lokalen Interaktion. Dies bildet die Vorgänge an der Grenzfläche von Blut und Biomaterialien jedoch nur unzureichend ab. Neue analytische Verfahren auf dem Gebiet der Massenspektrometrie („proteomics“) können lokalisierte Veränderungen an der Schnittstelle zwischen Blut und Biomaterial zu messen und somit zu einem besseren Verständnis der Bioverträglichkeit führen. Zusätzlich zur Identifizierung von Proteinsignaturen auf Biomaterialien können diese Verfahren Informationen über die unterschiedliche Zusammensetzung der Corona an der Materialoberfläche liefern und die Entwicklung innovativer Biomaterialien unterstützen.

Bibliographie

- Aird, William C. (2007): Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms. *Circulation Research* 100(2), 158-173. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000255691.76142.4a>.
- Gawaz, M. P. / Mujais, S. K. / Schmidt, B. / Gurland, H. J. (1994): Platelet-leukocyte aggregation during hemodialysis. *Kidney International* 46(2), 489-495. <https://doi.org/10.1038/ki.1994.299>.
- Karasu, Ebru / Eisenhardt, Steffen U. / Harant, Julia / Huber-Lang, Markus (2018): Extracellular vesicles: Packages sent with complement. *Frontiers in Immunology* 9721. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00721>.
- Kizhakkedathu, J. N. / Conway, E. M. (2022): Biomaterial and cellular implants: foreign surfaces where immunity and coagulation meet. *Blood* 139(13), 1987-1998. <https://doi.org/10.1182/blood.2020007209>.
- Klinkmann, H. / Wolf, H. / Schmitt, E. (1984): Definition of biocompatibility. *Contributions to Nephrology* 37, 3770-3777. <https://doi.org/10.1159/000408553>.
- Poppelaars, Felix / Faria, Bernado / Garya da Costa, Mariana / Franssen, Casper F. M. / van Son, Willem J. / Berger, Stefan P. / Daha, Mohamed R. / Seelen, Marc A. (2018): The complement system in dialysis: A forgotten story? *Frontiers in Immunology* 971. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00071>.
- Vroman, L. (1962). Effect of absorbed proteins on the wettability of hydrophilic and hydrophobic solids. *Nature* 196476-7. <https://doi.org/10.1038/196476a0>.
- Williams, David F. (2008): On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials* 29(20), 2941-2953. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.04.023>.
- Wolf, Peter (1967): The nature and significance of platelet products in human plasma. *British Journal of Haematology* 13(3), 269-288. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1967.tb08741.x>.

E-Mail-Adresse der Verfasserin: viktoria.weber@donau-uni.ac.at