

## Kertas Asli/Original Articles

# Tinjauan Perkembangan Penghasilan Pengganti Darah (A Review on Development of Blood Substitute)

MISLIA OTHMAN & MUHAMMAD AZRUL ZABIDI

### ABSTRAK

*Kertas tinjauan bertujuan untuk membentangkan satu pandangan menyeluruh perkembangan mengenai pengganti darah terutamanya pengganti sel darah merah yang berperanan sebagai pengangkut oksigen tiruan. Pengetahuan tentang darah manusia telah diinspirasi daripada kefahaman berkaitan sistem peredaran darah manusia. Ibn Nafis ialah yang pertama memperincikan bahawa darah mengalir melalui sistem respiratori sebelum masuk ke jantung. Dapatan tersebut menafikan tuntutan bahawa terdapat rongga halus pada septum jantung. William Harvey seterusnya memperincikan sistem kardiovaskular manusia secara lebih mendalam dan telah menyumbang kepada kefahaman yang lebih baik terhadap peranan darah dalam tubuh. Percubaan beberapa pemindahan darah menggunakan darah manusia, haiwan dan pengganti darah lain seperti susu telah dilakukan sebelum amalan tersebut diharamkan selama lebih 150 tahun di Eropah. Penemuan utama berkaitan kumpulan darah dan reaksi antibodi telah menjadikan pemindahan darah lebih selamat. Walau bagaimanapun, beberapa isu dan cabaran telah mencetuskan semula penerokaan untuk membangunkan pengganti sel darah merah. Dua pendekatan telah diambil untuk membangunkan pengganti sel darah merah yang telah diklasifikasikan kepada pengangkut oksigen berasaskan biologi dan kimia. Usaha-usaha terawal adalah pembangunan pengangkut oksigen berasaskan hemoglobin (HBOC) dan perfluorocarbon (PFC) sementara perkembangan terkini adalah pengangkut oksigen berasaskan polimer serta sel darah merah yang diperolehi daripada sel tunjang (stem cell) secara in-vitro.*

*Kata kunci: Pengganti darah; pengangkut oksigen tiruan; pengganti sel darah merah; transfusi darah*

### ABSTRACT

*This review paper aims to present an overview of the development of blood substitute particularly red blood cell substitute or artificial oxygen carrier. Knowledge on human blood inspired from the understanding of human blood circulation system. Ibn Nafis was first to describe that blood flow through respiratory system before entering the heart. This finding denied the claim that tiny pores present within the septum of the heart. Then, William Harvey further described human cardiovascular system in detail and contributed to better understanding on the roles of blood in body. Several blood transfusions were attempted using blood collected from human, animal and other blood substitutes such as milk before the practice was banned for almost 150 years in Europe. Major discoveries on blood group and antibody reaction have made blood transfusion safer. However, several issues and challenges have re-triggered the exploration to develop red cell substitutes. Two approaches have been taken to develop the red blood cell substitute which are classified into biological and chemical based oxygen carriers. The earliest efforts have been on haemoglobin based oxygen carrier (HBOC) and perfluorocarbon (PFC) while the recent development are on polymer-based oxygen carrier and in-vitro stem cell derived red blood cell.*

*Keywords: Blood substitute; artificial oxygen carrier; red blood cell substitute; blood transfusion*

## PENDAHULUAN

Darah merupakan komponen penting dalam sistem fisiologi tubuh badan manusia. Terdapat pelbagai peranan melibatkan darah seperti pengawalan suhu dan pH badan, pembekalan nutrien kepada sel, pembuangan sisa kumuh seperti urea dan asid laktik serta pertahanan badan melalui

sistem imun. Namun tugas utama darah khususnya sel darah merah adalah mengangkut gas oksigen dari sistem pernafasan ke dalam jantung sebelum diedarkan ke seluruh tubuh bagi tujuan respirasi sel. Sebagai timbal balas, sel darah merah akan mengangkut pula gas karbon dioksida yang dihasilkan oleh sel untuk kembali ke paru-paru sebelum dilepaskan keluar daripada badan. Proses ini

berterusan setiap detik bagi memastikan keperluan oksigen dalam tubuh badan manusia sentiasa dipenuhi (Dunn et al. 2016).

Komponen utama dalam sel darah merah yang bertanggungjawab melaksanakan tugas penting tersebut dikenali sebagai hemoglobin. Hemoglobin merupakan protein tetramerik yang mampu mengangkut empat molekul gas oksigen pada suatu masa. Ini menjadikan sistem pernafasan manusia normal begitu efisien khususnya apabila terdapat 20-30 trillion sel darah merah dalam badan manusia dewasa (5-6 juta sel dalam setiap mililiter padu darah) dengan setiap satu sel tersebut mempunyai jutaan hemoglobin (Thomas & Lumb 2012). Justeru itu, jika berlaku pendarahan yang mengakibatkan kehilangan darah yang banyak daripada tubuh akan menyebabkan kadar oksigen terjejas dalam badan dan mengancam nyawa.

Jelas sekali bahawa darah khususnya sel darah merah begitu penting sekali dalam badan manusia menjadikan ia salah satu elemen penting dalam rawatan yang berkaitan bagi menyelamatkan nyawa. Kehilangan darah akibat trauma atau ketaknormalan darah akibat penyakit thalassemia dan anemia memerlukan pemindahan darah. Perubatan moden menyaksikan bahawa darah boleh dipindahkan secara lebih selamat antara manusia. Darah yang diperolehi daripada penderma yang sihat akan disaring dan diproses sebelum dipindahkan kepada penerima. Pengetahuan ilmu berkaitan darah seperti kumpulan darah serta ujian saringan penyakit berjangkit bawaan darah begitu penting dalam memastikan keselamatan pemindahan darah (Verweij & Kramer 2018).

Walau bagaimanapun, pemindahan darah manusia masih bergantung kepada kadar pendermaan darah dalam sesebuah negara. Malaysia sebagai negara pesat membangun hanya mencatatkan kadar 2-3% penderma berbanding jumlah penduduk. Angka tersebut masih jauh daripada sasaran 6% seperti di negara maju (Ling, Hui, Tan & Ling 2018). Selain itu, risiko berkaitan pemindahan darah seperti tindak balas tidak sepadan dan sebaran HIV dan penyakit berjangkit melalui darah juga masih perlu diberikan perhatian. Oleh itu, para saintis seluruh dunia di era moden ini telah memulakan pelbagai usaha penyelidikan dan pembangunan bagi mencari pengganti darah khususnya pengganti sel darah merah atau pengangkut oksigen tiruan. Berdasarkan pengetahuan berkaitan sistem peredaran dan fisiologi darah, pelbagai pendekatan digunakan bagi meneroka ke arah penemuan pengganti darah yang selamat, bersifat universal, bebas agen penyakit berjangkit, biosepadan, mudah disimpan pada suhu bilik untuk jangka hayat sehingga dua tahun, kos pengeluaran yang rendah, mudah ditransfusikan dan memiliki separuh hayat yang lama dalam peredaran darah. (Moradi et al. 2016)

Usaha bagi mencari pengganti sel darah merah masih terus giat dilakukan sehingga hari ini. Namun, kesemua

kajian ilmu yang telah menambah kepada pengetahuan manusia berkaitan darah pada hari ini merupakan kesinambungan usaha tokoh-tokoh perubatan terdahulu. Khazanah kajian silam sejak zaman Mesir Purba, Yunani Kuno, Mesir Iskandariah, Rom, Arab-Parsi (Empayar Islam) dan Barat bermula dengan perincian sistem peredaran darah atau kardiovaskular sebelum mencetuskan lonjakan keilmuan yang hebat ke arah penerokaan peranan sebenar sel darah dalam tubuh. Kemajuan pengetahuan tentang darah dan strukturnya membawa kepada usaha memindahkan darah sama ada antara manusia ataupun daripada haiwan kepada manusia (Bestetti et al. 2014).

Biarpun terdapat beberapa siri kegagalan, para pengkaji terdahulu kekal optimis sehingga ada dalam kalangan mereka yang mencuba bahan alami untuk menggantikan darah bagi menyelamatkan nyawa (Giangrande 2000; Wiener 1933; Wood 1967). Selepas perincian mengenai sel darah dan sistem antibodinya membawa kemajuan besar kepada amalan perubatan moden, para pengkaji kini sekali lagi menjengah semula usaha mencari pengganti darah. Walau bagaimanapun, kefahaman terhadap naratif sejarah pembangunan kajian perubatan yang membawa kepada perkembangan ilmu berkaitan pengganti darah amat wajar diberikan perhatian sebelum melihat kepada kemajuan yang terkini.

## SEJARAH KAJIAN SISTEM PEREDARAN DARAH MANUSIA

Ilmu pengetahuan manusia tentang darah dan pengganti darah bermula dengan kajian tentang sistem peredaran darah manusia atau sistem kardiovaskular. Perkembangan ilmu tersebut merupakan kesinambungan dapatan pelbagai kajian oleh ramai tokoh perubatan sejak berzaman seperti garis masa dalam Rajah 1. Catatan ringkas dalam *Papyrus Ebers* pada era Mesir Purba sekitar tahun 1550 sebelum masihi (SM) merekodkan perkaitan antara nadi dan jantung. Sistem peredaran badan adalah dianggap medium yang mengangkut angin, darah, haba, sisa kumuh dan jiwa kehidupan (vital spirit) dalam tubuh (Finlayson 1893).

Keterbatasan ilmu pengetahuan berkaitan darah pada ketika itu sangat berkaitan rapat dengan kepercayaan kuno dan mitos tertentu. Namun ia tidak menghalang tokoh seperti Hippocrates yang hidup pada tamadun Yunani Kuno (tahun 375 SM) untuk mengkaji tentang anatomi jantung. Hippocrates menyebutkan bahawa sistem paru-paru berperanan menyejukkan dua ruang jantung yang menghasilkan haba akibat proses menguncup dan mengembang secara berterusan (Cheng 2001). Malah terdapat juga pandangan lain seperti Aristotle (tahun 322 SM) yang menyebutkan jantung mempunyai tiga ruang atau ventrikel serta terdapat dua salur darah utama yang

Rekod catatan dalam *Papyrus Ebers* berkaitan nadi & jantung serta elemen air, darah, sisa kumuh & *vital spiriti*

**Mesir Purba**  
1700-1500 SM

Memperkenalkan pandangan awal Galen dan Aristotle tentang 'rongga halus' pada *septum* jantung

Memperkenalkan semula pandangan awal Galen dan Aristotle tentang 'rongga halus' pada *septum* jantung

Memperincikan sistem peredaran darah iaitu sistem kardiovaskular, menafikan kewujudan 'rongga halus' pada *septum* jantung, bersetuju dengan Ibn Nafis

**Michael Servetus**  
1511-1553

1700-1500 SM

**Erasisrattus**  
310-250 SM

Jantung mempunyai tiga ventrikel & dua salur darah utama masuk dan keluar dari jantung

Jantung tidak mempunyai tulang pada *apex* jantung

Mempopularkan kembali pandangan jantung mempunyai tiga ventrikel & terdapat 'rongga halus' pada *septum* jantung

Cuba memperkenalkan semula teori 'rongga halus' pada *septum* sebelum menukar pandangan untuk bersetuju dengan Ibn Nafis, Servetus & Colombo

**Aristotle**  
460-375 SM

**Ar-Razi**  
856-925

**Mandino Luzzi**  
1276-1326

**Andreas Vesalius**  
1514-1564

**Mesir Iskandariah**

**Empayar Islam**

**Yunani Purba**

**Empayar Rom**

930-994

**Renaissance Eropah**

325-255 SM

**Haly Ibn Abbas**  
Memperincikan arteri koronari

1470-1550

1537-1619

**Herophilus**  
Otot jantung mengembang dan menguncup. Dinding arteri enam kali ganda lebih tebal daripada vena

**Chadius Galen**  
130-201  
Ventrikel kiri lebih berotot dan tebal bukan kerana haba tetapi kerana fungsi jantung mengempam darah. Darah mengalir antara dua ventrikel melalui 'rongga halus' pada *septum* jantung

**Berengario de Capri**  
Jantung mempunyai dua ventrikel, dua atria & dua injap

**Fabricius ab Aquapendentia**  
Memernukan injap dalam saluran darah. Mengajar di Universiti Padua, Itali, tempat William Harvey belajar perubahan

460-375 SM

**Hippocrates**

Jantung mempunyai dua ruang & fungsi paru-paru untuk menyebarkan suhu jantung yang panas akibat pengecupan otot jantung yang berterusan

Ventrikel kiri lebih berotot dan tebal bukan kerana haba tetapi kerana fungsi jantung mengempam darah. Darah mengalir antara dua ventrikel melalui 'rongga halus' pada *septum* jantung

**Ibn Nafis**  
1210-1288  
Menolak jantung mempunyai tiga ventrikel. Menolak 'rongga halus' pada *septum* jantung, sebaliknya memperincikan bahawa aliran darah dari ventrikel kanan ke paru-paru sebelum ke ventrikel kiri. Memernukan kapilari pulmonari

1516-1559

**Realdo Colombo**

Mengesahkan semula ketepatan pandangan Ibn Nafis dan Servetus tentang sistem kardiovaskular lantas menafikan kewujudan 'rongga halus' pada *septum* jantung

RAJAH 1. Garis masa perkembangan kajian berkaitan sistem kardiovaskular manusia

masuk dan keluar daripada jantung (Van Praagh & Van Praagh 1983).

Semasa era Mesir Iskandariah pula, Herophilus (tahun 255 SM) membuat pengesahan bahawa otot jantung mengembang dan menguncup. Beliau menambah bahawa dinding salur arteri enam kali lebih tebal dan berotot berbanding dinding salur vena (Bay & Bay 2010). Kajian pengasas sekolah anatomi Iskandariah berbangsa Yunani bernama Erasistratus (tahun 250 SM) pula menemui injap bikuspid dan trikuspid dalam jantung. Walaubagaimanapun, beliau masih berpandangan bahawa 'angin' dibawa secara langsung daripada paru-paru ke jantung sebagai *vital spirit* (Aird 2011).

Namun, tokoh perubatan ternama Empayar Rom, Cladius Galen telah mencadangkan bahawa ruang ventrikel kiri jantung lebih berotot bukan kerana 'haba' dan memerlukan 'angin', sebaliknya ia disebabkan oleh aktiviti berterusan jantung mengepam darah keluar ke seluruh badan. Galen menambah lagi bahawa darah mengalir daripada ventrikel kanan ke ventrikel kiri jantung melalui rongga halus yang terdapat pada otot pembahagi ruang jantung dikenali sebagai *septum* (Karamanou et al. 2015).

Kesinambungan ilmu pengetahuan berkaitan sistem peredaran darah diteruskan oleh ramai tokoh Arab-Parsi Muslim ketika Empayar Islam. Ar-Razi (tahun 925) menyebutkan jantung tidak mempunyai sebarang tulang pada tapak puncak (*apex*) jantung manakala Al-Akhwani Bukhari (tahun 983) dan Hally Abas (tahun 994) telah memperincikan salur arteri koronari (Papastavrou et al. 2018). Ibnu Sina (tahun 1037) dalam karyanya *al-Qanun fi at-Tibb* pula telah membuat penegasan yang sama seperti dapatan Galen dan Aristotle bahawa jantung mempunyai tiga ventrikel dan *septum* jantung mempunyai rongga halus yang membolehkan darah mengalir melalui dua ventrikel jantung (Chamsi-Pasha & Chamsi-Pasha 2014; Zarshenas & Zargaran 2015).

Walau bagaimanapun, pandangan Ibn Sina berkaitan *septum* tersebut telah disanggah oleh seorang tokoh perubatan Arab-Muslim bernama Ibn Nafis dalam karya bertajuk *Syarah al-Tashreeh al-Qanun* pada tahun 1260. Ibn Nafis menegaskan bahawa jantung hanya mempunyai dua ventrikel, bukan tiga ventrikel (Aloud 2017). Beliau menambah bahawa darah daripada ventrikel kanan ke kiri jantung bukan melalui rongga halus. Tetapi, menurut Ibn Nafis darah mengalir daripada ruang ventrikel kiri jantung melalui sistem paru-paru untuk 'mengambil' udara sebelum kembali semula ke ruang ventrikel kanan jantung. Ibn Nafis juga telah menemui salur darah halus dalam paru-paru yang disebut sebagai *manafidh* atau kemudian dikenali sebagai kapilari pulmonari (Loukas et al. 2008).

Sumbangan Ibn Nafis ini merupakan satu penemuan penting yang menyumbang kepada perkembangan ilmu sistem peredaran darah dan mengubah kefahaman tokoh

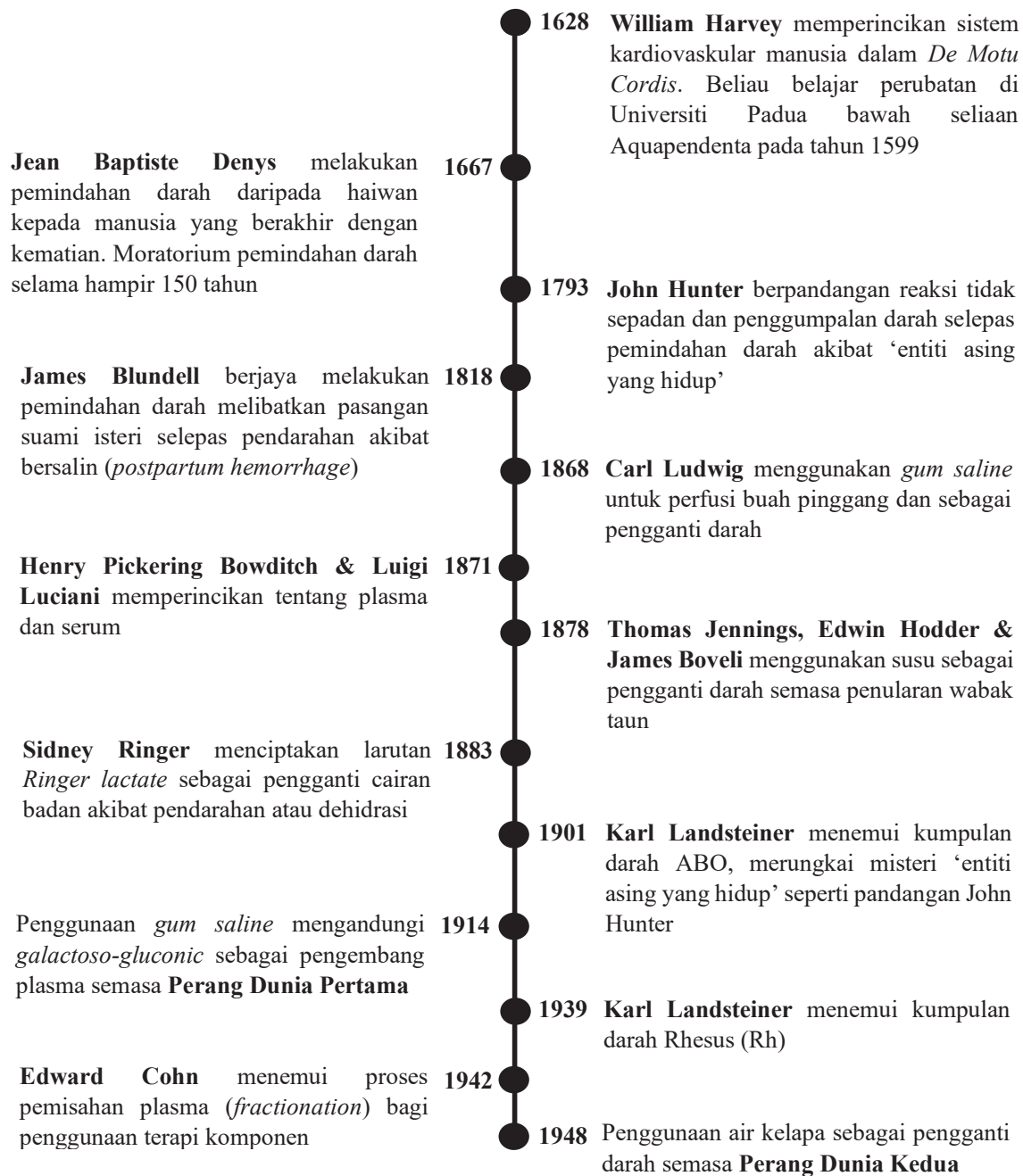
perubatan ketika zaman *Renaissance* di Eropah. Karya Ibn Nafis telah diterjemahkan secara meluas daripada bahasa Arab ke dalam Bahasa Hebrew dan kemudian ke dalam bahasa Latin bagi manfaat para pengkaji perubatan di Barat (Ashtiyani & Shamsi 2013).

Walaupun di Barat terdapat tokoh perubatan seperti Mandino Luzzi (tahun 1326) dari sekolah perubatan ternama di Universiti Bologna, beliau masih berpandangan jantung mempunyai tiga ventrikel (Mavrodi & Paraskevas 2014). Namun, Barendario de Carpi (tahun 1550) mengesahkan bahawa jantung hanya mempunyai dua ventrikel, dua atria dan dua injap sahaja (Bestetti et al. 2014).

Tokoh perubatan dan teologi ternama Sepanyol bernama Michael Servetus (tahun 1553) pula dalam *Christianismi Restitutio* telah memperincikan sistem kardio-pulmonari manusia (Bosmia et al. 2013). Beliau dan juga seorang lagi tokoh perubatan ternama di Universiti Padua bernama Realdo Colombo (tahun 1559) telah membuat penegasan semula dalam karya *De Re Anatomica* tentang ketepatan kajian Ibn Nafis. Mereka menegaskan bahawa darah mengalir daripada jantung melalui sistem paru-paru sebelum kembali semula ke jantung, bukan melalui rongga halus pada *septum* jantung seperti dakwaan ramai tokoh lain (ElMaghawry et al. 2014).

Walaupun pandangan Colombo cuba disanggah oleh seteru kesarjanaannya beliau yang berbangsa Belgium bernama Andreas Vesalius (tahun 1564) dalam *De Humani Corporis Fabrica*, Vesalius akhirnya menukar pendapat beliau yang 'cenderung Gelenik', malah menyokong dapatan kajian Servetus, Colombo dan Ibn Nafis. Vesalius dianggap bapa anatomi moden kerana telah menyumbang banyak kajian dan penemuan bukan sahaja dalam sistem organ jantung, bahkan organ pada bahagian badan lain (Nutton 2012).

Seorang lagi pengajar di sekolah perubatan Universiti Padua bernama Fabricius ab Acquapendente (tahun 1619) pula telah memperincikan injap dalam saluran peredaran darah yang memastikan darah sentiasa mengalir sehalu. Beliau merupakan pensyarah kepada seorang lagi tokoh perubatan moden berbangsa Inggeris yang menuntut di Universiti Padua bernama William Harvey (tahun 1657) (Porzionato et al. 2012). Harvey telah diangkat sebagai Bapa Fisiologi Moden kerana telah berjaya memperincikan sistem peredaran kardio-pulmonari manusia dalam karyanya beliau *Motu Cordis* pada tahun 1628. Dapatan daripada kajian Harvey khususnya dalam mengesahkan kajian Ibn Nafis berkaitan ketiadaan rongga halus pada *septum* jantung telah membuka lembaran baru dalam penemuan saintifik berkaitan amalan pemindahan darah dan pencarian pengganti darah khususnya di Eropah (Aird 2011). Garis masa penemuan dan pencapaian penting berkaitan amalan pemindahan darah dan kajian darah serta pengganti darah seperti dalam Rajah 2.



RAJAH 2. Garis masa penemuan dan pencapaian penting berkaitan amalan pemindahan darah dan kajian darah serta pengganti darah

## AMALAN PEMINDAHAN DARAH

Walaupun pengetahuan sistem peredaran darah sudah semakin berkembang, namun ilmu tentang darah dan pemindahan darah masih lagi terhad dalam kalangan sarjana perubatan. Ilmu perubatan pada era Harvey yang dianggap semakin moden sebenarnya masih terpengaruh dengan banyak kepercayaan karut dan mistik. Malah

terdapat amalan pemindahan darah daripada haiwan kepada manusia yang dilakukan oleh tokoh perubatan Perancis bernama Jean Baptiste Denys pada tahun 1667 (Roux et al. 2007). Cubaan beliau berakhir dengan kematian pesakit tersebut setelah dua kali berjaya sebelum itu. Kejadian itu menyebabkan amalan pemindahan darah diharamkan di Eropah selama hampir 150 tahun seterusnya membantutkan kemajuan ilmu berkaitan dengan darah (Winslow 2006).

Akhirnya pada tahun 1818, pemindahan darah pertama antara manusia berjaya dilakukan oleh pakar obstetrik British yang bernama James Blundell melibatkan satu pasangan suami isteri (Baskett 2002). Kejayaan tersebut mengesahkan pandangan John Hunter (tahun 1793) seorang pakar bedah Scotland bahawa darah mempunyai 'sesuatu yang bersifat asing' di dalamnya. Perkara ini telah mencetuskan perspektif baharu bahawa darah memiliki 'entiti hidup' yang menentukan sama ada berlaku reaksi tidak sepadan dan penggumpalan darah ketika bercampur antara darah penerima dan penderma (Kaya & Sindel 2016).

Namun begitu, ia tidak menghalang eksperimen melibatkan bahan alami seperti larutan getah Arab (Arabic-gum saline) oleh tokoh perubatan German bernama Carl Ludwig pada tahun 1868 (Maycock 1954). Malah, Thomas Jennings, Edward Hodder dan James Bovell mengambil langkah drastik sehingga menggunakan susu malah gelatin sebagai pengganti darah sewaktu berlaku wabak taun pada tahun 1878 (Oberman 1969). Pemahaman lanjut tentang darah juga berkembang setelah Henry Pickering Bowditch dan Luigi Luciani memperincikan komposisi ringkas serum dan plasma pada tahun 1871. Sumbangan tersebut telah membolehkan Sidney Ringer mencipta larutan *Ringer's lactate* pada tahun 1883 sebagai larutan garam (sodium) isotonik untuk menggantikan cairan badan akibat pendarahan atau dehidrasi (Miller 2004)b, 1883a,b.

Kejayaan paling besar dalam kajian darah tercipta apabila Karl Landsteiner merungkakan misteri 'entiti asing yang hidup' dalam darah sebagai kumpulan darah ABO pada tahun 1901 dan kemudian kumpulan Rhesus (Rh) pada tahun 1939 (Schwarz 2003; Landsteiner & Wiener 1940; Landsteiner 1961). Kemajuan ilmu ini telah menjadikan pemindahan darah manusia secara umumnya lebih selamat dengan memastikan kumpulan darah sepadan antara penderma dan penerima.

Namun ketika perang dunia tercetus, kekurangan darah mengakibatkan bahan alami kembali digunakan sebagai pengganti darah atau darah tiruan. Bahan seperti *gum saline* yang mengandungi asid *galactoso-gluconic* digunakan sebagai pengembang plasma (plasma expander) bagi menggantikan cecair dalam badan pada perang dunia pertama pada tahun 1914 sehingga tahun 1918 (Sarkar 2008). Selain itu, air kelapa juga pernah digunakan sebagai pengganti darah pada tahun 1945 semasa perang dunia kedua (Campbell-Falck et al. 2000). Kemajuan ilmu berkaitan darah semakin rancak setelah Edward Cohn menemui kaedah pemisahan plasma darah (plasma fractionation) bagi penggunaan terapi komponen (Cohn et al. 1946). Produk protein yang dipisahkan daripada plasma manusia sangat penting dalam pencegahan, pengurusan dan rawatan

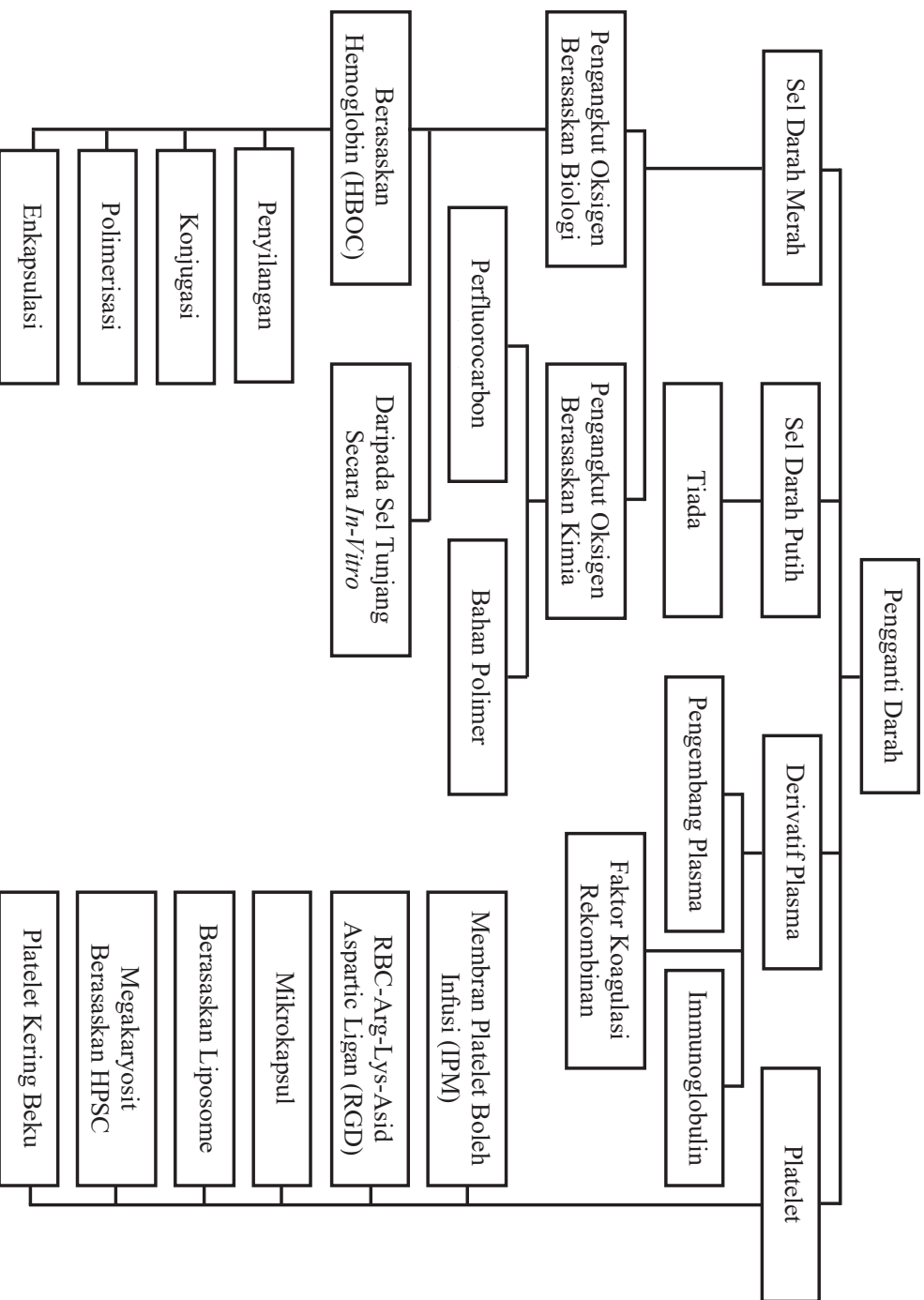
yang melibatkan keadaan mengancam nyawa akibat trauma, penyakit kongenital dan imunologi serta jangkitan (Burnouf 2007). Antara produk utama yang dapat dihasilkan melalui pemisahan plasma darah adalah albumin untuk kegunaan melaraskan cairan badan, IgG untuk mencegah jangkitan dan modulasi imun serta faktor VIII dan IX untuk rawatan haemofilia A dan B. Kualiti produk-produk tersebut sangat bergantung kepada kualiti plasma yang digunakan semasa proses pemisahan (Burnouf 2018).

## PERKEMBANGAN KAJIAN PENGGANTI DARAH

Sungguhpun amalan pemindahan darah sudah semakin diterima sebagai selamat, kajian tentang pengganti darah masih diteruskan selepas Perang Dunia Kedua. Keperluan darah khususnya ketika bencana alam, kejadian perang, penularan wabak penyakit dan sebagainya telah mencetuskan kajian berkaitan pengganti darah. Secara umumnya, pengganti darah merujuk kepada bahan alternatif kepada setiap komponen darah seperti sel darah merah, sel darah putih, platelet, derivatif plasma dan lain-lain seperti dalam Rajah 3. Namun, fokus utama kajian ini hanya menumpukan kepada pengganti sel darah merah sahaja. Hal demikian kerana sebahagian besar kajian saintifik yang telah sekian lama dijalankan telah melibatkan pembangunan alternatif kepada sel darah merah (packed red cell) berbanding komponen darah yang lain berdasarkan keperluan perubatan klinikal yang begitu mendesak terhadap produk sel darah merah. Selain itu, penularan wabak *human immunodeficiency virus* (HIV) telah disahkan sebagai agen penyakit AIDS pada tahun 1984. Retrovirus tersebut didapati boleh tersebar melalui pemindahan darah menyebabkan pelbagai usaha pembangunan pengganti darah khususnya sel darah merah dilakukan secara lebih giat (Kim & Greenburg 2006). Secara umumnya, pengganti sel darah merah boleh diklasifikasikan kepada pengangkut oksigen berasaskan kimia dan biologi.

## PENGGANGKUT OKSIGEN BERASASKAN KIMIA

Pengangkut oksigen berasaskan kimia terbahagi kepada dua jenis iaitu *perfluorocarbon* (PFC) dan pengangkut yang berasaskan bahan polimer. *Perfluorocarbon* (PFC) adalah larutan kimia organik yang pertama kali diuji ke atas mamalia (tikus makmal) oleh Leland Clark dan Frank Golan pada tahun 1966 (Clark & Gollan 1966). PFC merupakan cecair hidrokarbon yang kaya dengan *fluorine*



RAJAH 3. Klasifikasi pengganti darah

dan mampu melarutkan gas oksigen. Bahan tersebut pernah diuji sehingga ke fasa uji kaji ke atas haiwan (animal trial) oleh sekumpulan saintis diketuai Robert Geyer bermula pada tahun 1968 (Geyer 1975). Molekul sebatian PFC adalah jauh lebih kecil berbanding sel darah merah namun mampu mengangkut lebih banyak molekul oksigen berbanding hemoglobin. Struktur kimia PFC langsung tidak menyerupai sel darah merah atau hemoglobin. Walau bagaimanapun, sifat hidrofobik PFC memerlukan proses emulsifikasi bagi memastikan PFC mampu berinteraksi dengan sistem fisiologi badan khususnya sistem kardiovaskular. Antara produk PFC yang pernah dibangunkan, diuji atau digunakan adalah *Fluosol*, *Oxygent*, *Perftoran* dan *Oxycyte*.

*Fluosol* yang merupakan sejenis produk PFC mula diluluskan oleh US-FDA untuk kegunaan klinikal di Amerika Syarikat pada tahun 1989 sebelum ditarik semula pada tahun 1994 akibat kesan sampingan terhadap buah pinggang (renal toxicity) (Lowe 2006). Namun, produk PFC lain dengan label *Perftoran* yang dibangunkan di Rusia akhirnya diluluskan untuk kegunaan klinikal pada tahun 1997. Produk tersebut menunjukkan kesan sampingan yang lebih rendah berbanding *Fluosol* (Maevsky et al. 2005). Malah *Perftec* (dikomersialkan sebagai *Perftoran*) turut diluluskan untuk kegunaan klinikal di Mexico pada tahun 2005 (Abutarboush et al. 2016) crystalloid (saline).

Pengangkut oksigen berasaskan kimia jenis yang kedua adalah daripada bahan polimer mula mendapat perhatian selepas beberapa kejayaan penggunaan bahan tersebut dalam aplikasi bioperubatan seperti pengangkutan ubat dan pengimejan diagnostik (Feng et al. 2010; Van Dongen et al. 2014). Pada tahun 2007, kumpulan penyelidik diketuai Lance Twyman dari University of Sheffield telah berjaya menghasilkan darah 'plastik' daripada *iron cored hyperbranched polymer* (Twyman & Ge 2006). Model darah sintetik tersebut bebas bahan alami atau biologikal lantas menjadikan risiko tindak balas imunnya lebih rendah berbanding HBOC. Badan penyelidikan seperti makmal seliaan pihak ketenteraan Amerika Syarikat serta syarikat seperti Dendritech Corp telah mula secara serius melihat produk seperti *dendrimer* berpotensi sebagai darah tiruan (Moradi et al. 2016).

Walaupun beberapa model pengganti darah berasaskan polimer termasuk *polymeric micelle* dan *polymeric vesicle* mampu berfungsi mengangkut gas oksigen secara timbal balik, namun masih banyak kajian lanjut diperlukan. Antara langkah pembangunan lanjut adalah bagi mengoptimumkan fungsi fisiologi dan interaksi sel biologi serta meningkatkan jangka hayat dalam sistem peredaran darah dan pelbagai lagi (B. Li et al. 2014; 2013; Shi et al. 2009; Qi et al. 2016; T. Li, Jing & Huang 2011).

## PENGANGKUT OKSIGEN BERASASKAN BIOLOGI

Pengangkut oksigen berasaskan biologi pula boleh dibahagikan kepada dua jenis utama iaitu pengangkut oksigen berasaskan hemoglobin (*haemoglobin-based oxygen carrier* atau HBOC) dan penghasilan sel darah daripada sel tunjang secara *in-vitro*. HBOC merupakan hemoglobin daripada sumber manusia atau haiwan seperti lembu yang termodifikasi. Tujuan utama modifikasi hemoglobin tersebut adalah bagi mengoptimumkan kecenderungan HBOC bagi mengangkut oksigen dan mengurangkan risiko penguraian semasa proses penghantaran. Teknologi modifikasi ke atas hemoglobin tersebut termasuklah penyilangan (cross-linking), konjugasi (conjugation), polimerisasi (polymerisation) dan enkapsulasi (encapsulation) (Napolitano, 2009). Teknologi penyilangan seperti penggunaan *diaspirin-crosslinked hb* (DCLHB) untuk produk *Hemassist* atau *raffimer* untuk produk *Hemosol* adalah contoh generasi pertama HBOC.

Beberapa produk HBOC lain seperti *Hemopure* pula mula diperkenalkan kepada dunia perubatan dan menunjukkan keberkesanan serta kadar toleransi yang baik selepas diberikan kepada pesakit (Sprung et al. 2002). Malah, *Hemopure* atau *haemoglobin-glutamer-250* telah diluluskan untuk kegunaan klinikal di Afrika Selatan pada tahun 2001 (Mer et al. 2016). Produk HBOC lain pula mula memasuki ujian klinikal seperti *PolyHeme* yang berjaya melepasi sehingga fasa ketiga (III) pada tahun 2006 sebelum didapati tidak memberikan manfaat yang besar kepada kesihatan pesakit (Apte 2008). Malah, terdapat beberapa produk seperti *Oxygent* dan *Hemopure* juga telah memberikan kesan sampingan yang membahayakan seperti angin ahmar dan kegagalan sistem kardiovaskular (Chen et al. 2009). Terdapat juga produk HBOC yang langsung tidak melibatkan bahan polimer dikenali sebagai *Oxyvita*, namun ia belum melepasi sebarang ujian klinikal kerana masih di peringkat pengujian haiwan. Kajian awal ke atas tikus yang sihat menunjukkan produk tersebut berisiko meningkatkan tekanan darah yang boleh mengakibatkan iskemia serebrum (Abutarboush et al. 2014; Harrington & Wollocko 2010).

Walaupun beberapa produk PFC dan HBOC telah dibangunkan, namun pencarian pengganti darah sel darah merah atau pengangkut oksigen tiruan masih belum berakhir. Hal demikian kerana masih terdapat banyak ketidakpastian khususnya berkaitan kesan sampingan selain faktor 'mudarat mengatasi manfaat'. Namun, usaha penyelidikan masih terus dijalankan termasuk pembangunan darah tiruan berasaskan nanoperubatan yang menggunakan polimer sebagai biobahan yang serasi dengan badan



manusia (Sen Gupta 2017). Pada masa yang sama, kesulitan dan cabaran membangunkan pengangkut oksigen berasaskan bahan sintetik penuh seperti PFC dan bahan separa alami seperti HBOC telah mencetuskan penerokaan terhadap sistem yang lebih semulajadi khasnya seperti penghasilan sel darah merah daripada sel tunjang (stem cell) di dalam makmal (Christaki et al. 2019; Lippi et al. 2011; Seo et al. 2019)

Kajian ke atas sel tunjang bagi menghasilkan pengganti sel darah merah mula diterokai oleh para saintis sejak lebih 20 tahun lepas. Sekumpulan penyelidik yang diketuai oleh Donald Kohn telah membangunkan satu model penghasilan sel darah merah manusia secara *in-vitro* daripada sumber sel leluhur hematopoetik (haematopoietic progenitor cells, HPC) pada tahun 1998 (Malik et al. 1998).

Kajian tersebut merupakan usaha awal yang menggunakan faktor pertumbuhan rekombinasi untuk menggalakkan kematangan penuh sel darah merah yang diperolehi daripada sumber HPC. Sel darah merah matang yang telah ternyah nukleus kemudian diasingkan untuk diuji kaji secara lebih terperinci. Teknik menghasilkan sel darah merah di luar badan atau *ex-vivo* ini terus menarik minat ramai pengkaji perubatan dan biologi sel.

Pada tahun 2005, kumpulan penyelidik diketuai oleh Luc Douay telah berjaya menghasilkan sel darah merah matang berskala besar dalam makmal melalui pelbagai sumber sel tunjang hematopoetik (haematopoietic stem cells, HSC) (Giarratana et al. 2005). Penyelidik tersebut telah mewujudkan persekitaran mikro dalam media kultur dengan pelbagai sitokin dan bahan reagen lain untuk menghasilkan sel darah merah yang 100% mencapai kematangan setelah melalui fasa perbezaan (differentiation) dan amplifikasi (amplification).

Pada tahun 2008 pula, sekumpulan saintis diketuai Robert Lanza telah berjaya memperincikan sifat biologi dan proses menyah-nukleus sel darah merah daripada sel tunjang embrio manusia (human embryonic stem cells, hESC) (Lu et al. 2008). Kumpulan tersebut membuktikan bahawa sel darah merah yang berfungsi boleh dihasilkan daripada hESC dalam skala besar iaitu sehingga  $10^{10}$  ke  $10^{11}$  bilangan sel per plat enam ruang. Selain itu, sel darah merah tersebut juga buat pertama kali berjaya menyamai lengkung keseimbangan oksigen (oxygen equilibrium curve) sel darah merah semulajadi, malah berupaya bertindakbalas berdasarkan perubahan pH dan 2,3-DPG.

Biarpun penghasilan sel darah merah daripada hESC tersebut masih memiliki globin janin (fetal) dan embrio, ia masih berupaya untuk mengekspresikan rantai  $\beta$ -globin manusia dewasa selepas matang secara *in-vitro*. Semasa proses tersebut, sel darah merah melalui beberapa siri kematangan termasuk pengecilan saiz secara progresif, peningkatan ekspresi glycophorin A dan chromatin serta

penebalan nukleus. Selepas itu, lebih daripada 60% sel darah merah tersebut mencatatkan tahap nyah-nukleus bagi menghasilkan sel yang berdiameter 6 ke 8  $\mu\text{m}$ .

Pada tahun 2011 pula, kumpulan Luc Douay meneruskan usaha bagi membuktikan keupayaan sel darah merah yang dihasilkan oleh mereka pada tahun 2005 untuk aplikasi klinikal (Giarratana et al. 2011). Kajian mereka telah menguji kapasiti sel darah merah yang matang secara *in-vitro* atau di luar badan untuk terus hidup di dalam sistem badan manusia. Sel darah merah yang dikenali sebagai *cultured red blood cell* (cRBC) itu telah menunjukkan keupayaan untuk mengikat, mengangkut dan melepaskan gas oksigen dalam sistem fisiologi tubuh manusia.

Selain itu, cRBC turut mempunyai ekspresi antigen kumpulan darah pada permukaan membran sel yang dihasilkan. cRBC yang diuji dalam badan manusia menunjukkan bilangan kekal sehingga 63% dalam sistem peredaran darah dan mampu menyamai  $28 \pm 2$  hari separuh hayat (half-life) sel darah merah semulajadi di dalam tubuh subjek manusia. Dapatan kajian oleh Luc Douay bukan sahaja menunjukkan sel darah merah boleh dihasilkan dalam makmal, bahkan berfungsi dengan baik dalam tubuh manusia.

Sehingga tahap tersebut, para saintis sangat yakin bahawa sel darah merah mampu dihasilkan dalam makmal secara skala besar daripada sumber sel tunjang yang pelbagai. Namun, halangan utama adalah proses perbezaan dan amplifikasi sel yang perlu dikultur dalam makmal melibatkan penggunaan reagen dan faktor pertumbuhan yang pelbagai. Hal demikian menjadikan penghasilan sel darah merah secara *in-vitro* pada skala besar sangat mahal dan rumit. Pelbagai usaha dilakukan oleh saintis bagi meringkaskan kaedah dan mengoptimumkan proses penghasilan sel darah dalam makmal seperti aktiviti kajian kumpulan penyelidik yang diketuai oleh Joanne Mountford dari University of Glasgow.

Antara tahun 2011 hingga 2017, terdapat banyak kajian yang memfokuskan kepada pelbagai peringkat perbezaan sel tunjang, proses amplifikasi dan kematangan sel tersebut khasnya daripada sumber sel tunjang pluripotent yang diaruh (induced pluripotent stem cells, iPSC), HSC dan hESC (Yang et al. 2017; Olivier et al. 2016; Jackson et al. 2016; Garate et al. 2015; Mittra et al. 2015; Mountford & Turner 2011; Yung et al. 2011; Mountford, Olivier & Turner 2010; Mountford et al. 2010).

Pelbagai jenis faktor pertumbuhan, kultur media, pengubahan genetik serta lain-lain terus diuji serta disesuaikan bagi penghasilan sel darah merah yang berfungsi secara efisien dan efektif. Pada tahun 2017, sekumpulan penyelidik dari University of Bristol dianggotai oleh tiga penyelidik utama iaitu David Anstee, Allison Blair dan Jay Frayne berjaya menghasilkan jalur eritroid kekal (immortalised erythroid line) daripada

manusia buat pertama kalinya untuk penghasilan sel darah merah yang matang (Trakarnsanga et al. 2017).

Kerja penyelidikan tersebut melibatkan kerjasama *National Health Service* (NHS) telah berjaya menghasilkan sel darah merah daripada sumber sel tunjang (stem cell derived-red blood cell) yang kini sedang melalui fasa ujian klinikal melibatkan antara 20 hingga 25 subjek manusia di UK. Ujian klinikal tersebut begitu dinantikan oleh para saintis seluruh dunia, namun keputusannya dijangka hanya akan diketahui dalam tempoh dua ke tiga tahun lagi (Wellcome Trust 2014). Mungkinkah sel darah merah yang dihasilkan daripada sel tunjang secara *in-vitro* dalam makmal merupakan jawapan kepada cabaran dan memenuhi jangkaan setara dengan sel darah merah semulajadi?

## KESIMPULAN

Pembangunan produk pengganti darah atau pengangkut oksigen tiruan telah melalui pelbagai fasa kemajuan sejak ratusan tahun terdahulu. Kefahaman manusia tentang fungsi fisiologi darah menjadi lebih mendalam selepas ilmu berkaitan sistem peredaran darah manusia atau sistem kardiovaskular diperincikan oleh ramai tokoh perubatan silam. Kemajuan ilmu tentang peranan sistem pernafasan dan aliran darah yang tidak ‘menembusi’ septum jantung merungkai fungsi sebenar darah bagi mengangkut gas oksigen ke seluruh tubuh. Sebelum itu, darah masih dianggap ‘mistik’ dan ‘misteri’ yang penuh dengan kepercayaan karut dan andaian salah tanpa sebarang kelebihan perubatan yang spesifik. Namun begitu, masih berlaku banyak percubaan untuk memindahkan darah daripada manusia dan haiwan, malah turut melibatkan pengganti darah daripada bahan alami seperti susu. Kecetekkan ilmu pengetahuan mengenai darah telah menyebabkan beberapa kematian ke atas pesakit sehinggakan amalan pemindahan darah mahupun pengganti darah diharamkan selama lebih seratus tahun di Eropah.

Namun demikian, pelbagai dapatan daripada siri kajian yang dilakukan pada saban dekad telah berjaya merungkakan satu persatu ‘misteri benda asing’ dalam darah. Kemajuan kajian darah khususnya oleh Karl Landsteiner berkenaan sistem antibodi dan kumpulan sel darah merah telah mengukuhkan lagi kefahaman dan keyakinan bahawa pemindahan darah manusia boleh dilakukan secara selamat. Perkembangan perubatan moden pula terus meneroka pelbagai lagi penggunaan komponen darah seperti plasma bagi mengvariasikan aspek perubatan klinikal berdasarkan keperluan khusus pesakit.

Walau bagaimanapun, cabaran semasa seperti kejadian perang, bencana alam, penyebaran agen penyakit

berjangkit melalui darah, kadar pendermaan yang rendah dan berisiko telah mencetuskan semula usaha mencari pengganti darah sebagai produk alternatif kepada pemindahan darah konvensional. Bahan alami seperti air kelapa pernah digunakan semasa Perang Dunia akibat kekurangan darah yang meruncingkan ketika itu. Penemuan larutan Ringer yang lebih selamat dan berkesan bagi menggantikan semula cecair badan akibat kehilangan darah merupakan satu kejayaan yang penting. Namun, bahan seperti larutan Ringer hanya mampu melaraskan isipadu cecair badan yang hilang supaya jantung terus aktif berfungsi, tetapi bahan tersebut tidak mempunyai kapasiti untuk mengangkut oksigen dalam badan.

Justeru itu, usaha meneroka produk pengganti darah atau pengangkut oksigen tiruan bermula dengan produk HBOC yang menggunakan pendekatan biologi manakala PFC pula merupakan produk kimia sintetik. Biarpun ada banyak kemajuan, produk-produk tersebut masih belum mendapatkan kelulusan penuh untuk digunakan secara meluas. Produk sintetik dan biobahan yang berasaskan polimer umpamanya masih pada peringkat kajian awal biarpun mencatatkan banyak kemajuan dalam aplikasi lain seperti sistem pengangkutan ubat dan kejuruteraan biobahan untuk perubatan regeneratif.

Pada masa yang sama, para saintis terus meneroka kemungkinan untuk menghasilkan sel darah merah berasaskan sel tunjang secara *in-vitro* di dalam makmal. Usaha tersebut mencatatkan perkembangan yang positif yang majoritinya sedang menantikan keputusan ujian klinikal. Sel darah yang terhasil tersebut menggunakan pendekatan biologi atau semulajadi dijangka akan menjadi lebih sepadan dengan sistem fisiologi tubuh manusia lantas dapat mengurangkan kesan sampingan. Cabaran utama yang perlu diatasi adalah pengurangan kos penghasilan yang tinggi sekiranya sel darah merah yang terhasil secara *in-vitro* ini mahu dijadikan alternatif utama kepada sel darah merah.

Kepesatan perkembangan ilmu pengetahuan dan kajian berkaitan darah merupakan hasil daripada usaha keras para saintis dan sarjana perubatan silam sehingga kini. Biarpun ilmu perubatan moden telah begitu maju dan giat berkembang, usaha untuk membangunkan pengganti darah atau pengangkut oksigen tiruan khususnya sebagai alternatif kepada sel darah merah masih diteruskan. Sehingga ada produk yang selamat dan berkesan yang setara dengan fungsi sel darah merah semulajadi ciptaan Tuhan ditemukan, manusia umumnya masih perlu bergantung kepada pendermaan darah oleh masyarakat yang bermurah hati untuk menderma secara konsisten. Selain meningkatkan bilangan penderma darah, masyarakat juga perlu memperbaiki sistem sosial bagi menangani tingkahlaku berisiko seperti amalan seks bebas, penggunaan dadah dan aktiviti homoseksual yang hanya akan

mengecilkan kumpulan penderma darah sihat akibat risiko pemindahan agen penyakit berjangkit melalui darah seperti HIV, hepatitis, sifilis dan lain-lain.

#### RUJUKAN

- Abutarboush, R., Aligbe, C., Pappas, G., Saha, B., Arnaud, F., Haque, A., Charles, A., McCarron, R., Scultetus, A., & Moon-Massat, P. 2014. Effects of the oxygen-carrying solution OxyVita C on the cerebral microcirculation and systemic blood pressures in healthy rats. *Journal of Functional Biomaterials* 5: 246-258.
- Abutarboush, R., Saha, B., Mullah, S., Arnaud, F., Haque, A., Aligbe, C., Pappas, G., Auker, C., McCarron, R., Moon-Massat, P. & Scultetus, A. 2016. Cerebral microvascular and systemic effects following intravenous administration of the perfluorocarbon emulsion Perftoran. *Journal of Functional Biomaterials* 7: 29.
- Aird, W.C. 2011. Discovery of the cardiovascular system: From Galen to William Harvey. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 9: 118-129.
- Aloud, A. 2017. Ibn al-Nafis and the discovery of the pulmonary circulation. *The Southwest Respiratory and Pulmonary Chronicles* 5: 71-73.
- Apte, S.S. 2008. Blood substitutes- the polyheme trials. *McGill Journal of Medicine* 11: 59-65.
- Ashtiyani, S.C. & Shamsi, M. 2013. The discoverer of pulmonary blood circulation: Ibn Nafis or William Harvey? *Middle East Journal of Scientific Research* 18: 562-568.
- Baskett, T.F. 2002. James Blundell: the first transfusion of human blood. *Resuscitation* 52: 229-233.
- Bay, N.S.Y. & Bay, B.H. 2010. Greek anatomist herophilus: the father of anatomy. *Anatomy & Cell Biology* 43: 280-283.
- Bestetti, R.B., Restini, C.B.A. & Couto, L.B. 2014. Development of anatomophysiological knowledge regarding the cardiovascular system: From Egyptians to Harvey. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 103: 538-545.
- Bosmia, A., Watanabe, K., Shoja, M.M., Loukas, M. & Tubbs, R.S. 2013. Michael Servetus (1511-1553): Physician and heretic who described the pulmonary circulation. *International Journal of Cardiology* 167: 318-321.
- Burnouf, T. 2007. Modern plasma fractionation. *Transfusion Medicine Reviews* 21: 101-117.
- Burnouf, T. 2018. An overview of plasma fractionation. *Annals of Blood* 1: 1-10.
- Campbell-Falck, D., Thomas, T., Falck, T.M., Tutuo, N. & Clem, K. 2000. The intravenous use of coconut water. *American Journal of Emergency Medicine* 18: 108-111.
- Chamsi-Pasha, M.R. & Chamsi-Pasha, H. 2014. Avicenna's contribution to cardiology. *Avicenna Journal of Medicine* 4: 9-12.
- Chen, J.-Y., Scerbo, M. & Kramer, G. 2009. A review of blood substitutes: examining the history, clinical trial results, and ethics of hemoglobin-based oxygen carriers. *Clinics* 64: 803-813.
- Cheng, T.O. 2001. Hippocrates and cardiology. *American Heart Journal* 141: 173-183.
- Christaki, E.E., Politou, M., Antonelou, M., Athanasopoulos, A., Simantirakis, E., Seghatchian, J., & Vassilopoulos, G. 2019. Ex vivo generation of transfusable red blood cells from various stem cell sources: A concise revisit of where we are now. *Transfusion and Apheresis Science* 58: 108-112.
- Clark, L.C. & Gollan, F. 1966. Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure. *Science* 152: 1755-1756.
- Cohn, E.J. Strong, L.E., Hughes, W.L., Mulford, D.J., Ashworth, J.N., Melin, M. & Taylor, H.L. 1946. Preparation and properties of serum and plasma proteins. IV. A system for the separation into fractions of the protein and lipoprotein components of biological tissues and fluids. *Journal of the American Chemical Society* 68: 459-475.
- Dunn, J.O.C., Mythen, M.G. & Grocott, M.P. 2016. Physiology of oxygen transport. *BJA Education*. Oxford: Oxford Academic 16: 341-348
- ElMaghawry, M., Zanatta, A. & Zampieri, F. 2014. The discovery of pulmonary circulation: From Imhotep to William Harvey. *Global Cardiology Science and Practice* 2014: 103-116.
- Feng, X., Lv, F., Liu, L., Tang, H., Xing, C., Yang, Q. & Wang, S. 2010. Conjugated polymer nanoparticles for drug delivery and imaging. *ACS Applied Materials and Interfaces* 2: 2429-2435.
- Finlayson, J. 1893. Ancient Egyptian medicine. *British Medical Journal* 312: 1166.
- Garate, Z., Quintana-Bustamante, O., Crane, A.M., Olivier, E., Poirot, L., Galetto, R., Kosinski, P., Hill, C., Kung, C., Agirre, X., Orman, I., Cerrato, L., Alberquilla, O., Rodriguez-Fornes, F., Fusaki, N., Garcia-Sanchez, F., Maia, T., Ribeiro, M., Sevilla, J., Prosper, F., Jin, S., Mountford, J., Guenechea, G., Gouble, A., Bueren, J., Davis, B. & Segovia, J.C. 2015. Generation of a high number of healthy erythroid cells from gene-edited pyruvate kinase deficiency patient-specific induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports* 5: 1053-1066.
- Geyer, R.P. 1975. "Bloodless" rats through the use of artificial blood substitutes. *Federation Proceedings* 34: 1499-1505.
- Giangrande, P.L.F. 2000. The history of blood transfusion. *British Journal of Haematology* 110: 758-767
- Giarratana, M.C., Kobari, L., Lapillonne, H., Chalmers, D., Kiger, L., Cynober, T., Marden, M. C., Wajzman, H. & Douay, L. 2005. Ex vivo generation of fully mature human red blood cells from hematopoietic stem cells. *Nature Biotechnology* 23: 69-74.

- Giarratana, M.C., Rouard, H., Dumont, A., Kiger, L., Safeukui, I., Le Pennec, P.Y., Francois, S., Trugnan, G., Peyrard, T., Marie, T., Jolly, S., Hebert, N., Mazurier, C., Mario, N., Harmand, L., Lapillonne, H. & Douay, L. 2011. Proof of principle for transfusion of in vitro-generated red blood cells. *Blood* 118: 5071-5079.
- Harrington, J.P. & Wollocko, H. 2010. Pre-clinical studies using OxyVita hemoglobin, a zero-linked polymeric hemoglobin: A review. *Journal of Artificial Organs* 13: 183-188.
- Jackson, M., Ma, R., Taylor, A.H., Axton, R.A., Easterbrook, J., Kydonaki, M., Olivier, E., Marenah, L., Stanley, E.G., Elefanty, A.G., Mounford, J.C. & Forrester, L.M. 2016. Enforced expression of HOXB4 in human embryonic stem cells enhances the production of hematopoietic progenitors but has no effect on the maturation of red blood cells. *Stem Cells Translational Medicine* 5: 981-990.
- Karamanou, M., Stefanadis, C., Tsoucalas, G., Laios, K. & Androustos, G. 2015. Galen's (130-201 AD) conceptions of the heart. *Hellenic Journal of Cardiology* 56: 197-200.
- Kaya, Y. & Sindel, A. 2016. John Hunter (1728–1793) and his legacy to science. *Child's Nervous System* 32: 1015-1017.
- Kim, H.W. & Greenburg, A.G. 2006. Toward 21st century blood component replacement therapeutics: Artificial oxygen carriers, platelet substitutes, recombinant clotting factors, and others. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Biotechnology* 34: 537-550.
- Landsteiner, K. 1961. On agglutination of normal human blood. *Transfusion* 1: 5-8.
- Landsteiner, K., & Wiener, A.S. 1940. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for Rhesus blood. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 43: 223
- Li, B., Li, T., Chen, G., Li, X., Yan, L., Xie, Z., Jing, X. & Huang, Y. 2013. Regulation of conjugated hemoglobin on micelles through copolymer chain sequences and the protein's isoelectric aggregation. *Macromolecular Bioscience* 13: 893-902.
- Li, B., Qi, Y., He, S., Wang, Y., Xie, Z., Jing, X., & Huang, Y. 2014. Asymmetric copolymer vesicles to serve as a hemoglobin vector for ischemia therapy. *Biomaterials Science* 2: 1254-1261.
- Li, T., Jing, X. & Huang, Y. 2011. Polymer/hemoglobin assemblies: Biodegradable oxygen carriers for artificial red blood cells. *Macromolecular Bioscience* 11: 865-875.
- Ling, L.M., Hui, T.S., Tan, A.K.G. & Ling, G.S. 2018. Determinants of blood donation status in Malaysia: Profiling the non-donors, occasional donors and regular donors. *Kajian Malaysia* 36: 43-62.
- Lippi, G., Montagnana, M. & Franchini, M. 2011. Ex-vivo red blood cells generation: A step ahead in transfusion medicine? *European Journal of Internal Medicine* 22: 16-19.
- Loukas, M., Lam, R., Tubbs, R.S., Shoja, M.A.M. & Apaydin, N. 2008. Ibn al-Nafis (1210-1288): The first description of the pulmonary circulation. *American Surgeon* 74: 440-442.
- Lowe, K.C. 2006. Chapter 25 - Fluosol®: The first commercial injectable perfluorocarbon oxygen carrier. In R. M. Winslow (Ed.), *Blood Substitutes*. California: Elsevier Academic Press.
- Lu, S.J., Feng, Q., Park, J.S., Vida, L., Lee, B.S., Strausbauch, M., Wettstein, P.J., Honig, G.R. & Lanza, R. 2008. Biologic properties and enucleation of red blood cells from human embryonic stem cells. *Blood* 112: 4475-4484.
- Maevsky, E., Ivanitsky, G., Bogdanova, L., Axenova, O., Karmen, N., Zhiburt, E., Senina, R., Pushkin, S., Maslennikov, I., Orlov, A. & Marinicheva, I. 2005. Clinical results of Perforan application: Present and future. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Immobilization Biotechnology* 33: 37-46.
- Malik, P., Fisher, T.C., Barsky, L.L.W., Zeng, L., Izadi, P., Hiti, A.L., Weinberg, K.I., Coates, T.D., Meiselman, H.J. & Kohn, D.B. 1998. An in vitro model of human red blood cell production from hematopoietic progenitor cells. *Blood* 91: 2664-2671.
- Mavrodi, A. & Paraskevas, G. 2014. Morphology of the heart associated with its function as conceived by ancient Greeks. *International Journal of Cardiology* 172: 23-28.
- Maycock, W. d'A. 1954. Provision of material for transfusion after injury: Plasma substitutes. *British Medical Bulletin* 10: 29-31.
- Mer, M., Hodgson, E., Wallis, L., Jacobson, B., Levien, L., Snyman, J., Sussman, M.J., James, M., van Gelder, A., Allgier, R. & Jahr, J.S. 2016. Hemoglobin glutamer-250 (bovine) in South Africa: Consensus usage guidelines from clinician experts who have treated patients. *Transfusion* 56: 2631-2636.
- Miller, D.J. 2004. Sydney Ringer; Physiological saline, calcium and the contraction of the heart. *Journal of Physiology* 555: 585-587.
- Mitra, J., Tait, J., Mastroeni, M., Turner, M.L., Mountford, J.C. & Bruce, K. 2015. Identifying viable regulatory and innovation pathways for regenerative medicine: A case study of cultured red blood cells. *New Biotechnology* 32: 180-190.
- Moradi, S., Jahanian-Najafabadi, A. & Roudkenar, M.H. 2016. Artificial blood substitutes: First steps on the long route to clinical utility. *Clinical Medicine Insights: Blood Disorders* 9: 33-41.
- Mountford, J.C., Olivier, E., Jordanides, N.E., De Sousa, P. & Turner, M.L. 2010. Red blood cells from pluripotent stem cells for use in transfusion. *Regenerative Medicine* 5: 411-423.

- Mountford, J.C. & Turner, M. 2011. In vitro production of red blood cells. *Transfusion and Apheresis Science* 45: 85-89.
- Mountford, J., Olivier, E. & Turner, M. 2010. Prospects for the manufacture of red cells for transfusion. *British Journal of Haematology* 149: 22-34.
- Napolitano, L.M. 2009. Hemoglobin-based oxygen carriers: First, second or third generation? Human or bovine? Where are we now? *Critical Care Clinics* 25: 279-301.
- Nutton, V. 2012. Vesalius revised. His annotations to the 1555 Fabrica. *Medical History* 56: 415-443.
- Oberman, H.A. 1969. Early history of blood substitutes: Transfusion of milk. *Transfusion* 9: 74-77.
- Olivier, E.N., Marenah, L., McCahill, A., Condie, A., Cowan, S. & Mountford, J.C. 2016. High-efficiency serum-free feeder-free erythroid differentiation of human pluripotent stem cells using small molecules. *Stem Cells Translational Medicine* 5: 1394-1405.
- Papastavrou, G., Karamanou, M., Papaioannou, T., Agapitos, E. & Androustos, G. 2018. The Arabo-Islamic contribution to the evolution of cardiology. *Archives of the Balkan Medical Union* 53: 268-271.
- Porzionato, A., Macchi, V., Stecco, C., Parenti, A. & De Caro, R. 2012. The anatomical school of Padua. *Anatomical Record* 295: 902-916.
- Qi, Y., Li, T., Wang, Y., Wei, X., Li, B., Chen, X., Xie, Z., & Huang, Y. 2016. Synthesis of the hemoglobin-conjugated polymer micelles by thiol Michael addition reactions. *Macromolecular Bioscience* 16: 906-913.
- Roux, F.A., Saï, P. & Deschamps, J.Y. 2007. Xenotransfusions, past and present. *Xenotransplantation* 14: 208-216.
- Sarkar, S. 2008. Artificial blood. *Indian Journal of Critical Care Medicine : Peer-Reviewed, Official Publication of Indian Society of Critical Care Medicine* 12: 140-144.
- Schwarz, H.P. 2003. Historical review: Karl Landsteiner and his his major contributions to haematology. *British Journal of Haematology* 121: 556-565.
- Sen Gupta, A. 2017. Bio-inspired nanomedicine strategies for artificial blood components. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology* 9: e1464
- Seo, Y., Shin, K.-H., Kim, H.H. & Kim, H.-S. 2019. Current advances in red blood cell generation using stem cells from diverse sources. *Stem Cells International*, 2019 (928132): 1-10.
- Shi, Q., Huang, Y., Chen, X., Wu, M., Sun, J. & Jing, X. 2009. Hemoglobin conjugated micelles based on triblock biodegradable polymers as artificial oxygen carriers. *Biomaterials* 30: 5077-5085.
- Sprung, J., Kindscher, J.D., Wahr, J.A., Levy, J.H., Monk, T.G., Moritz, M.W. & O'Hara, P.J. 2002. The use of bovine hemoglobin glutamer-250 (Hemopure®) in surgical patients: Results of a multicenter, randomized, single-blinded trial. *Anesthesia and Analgesia* 94: 799-808.
- Thomas, C., & Lumb, A.B. 2012. Physiology of haemoglobin. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care and Pain* 12: 251-256.
- Trakarnsanga, K., Griffiths, R.E., Wilson, M.C., Blair, A., Satchwell, T.J., Meinders, M., Cogan, N., Kupzig, S., Kurita, R., Nakamura, Y., Toye, A.M., Anstee, D.J. & Frayne, J. 2017. An immortalized adult human erythroid line facilitates sustainable and scalable generation of functional red cells. *Nature Communications* 8(14750): 1-7.
- Twyman, L.J. & Ge, Ye. 2006. Porphyrin cored hyperbranched polymers as hemeprotein models. *Chemical Communications* 15: 1658-1660.
- Van Dongen, M.A., Dougherty, C.A. & Banaszak Holl, M.M. 2014. Multivalent polymers for drug delivery and imaging: The challenges of conjugation. *Biomacromolecules* 15: 3215-3234.
- Van Praagh, R. & Van Praagh, S. 1983. Aristotle's "triventricular" heart and the relevant early history of the cardiovascular system. *Chest* 84: 462-468.
- Verweij, M. & Kramer, K. 2018. Donor blood screening and moral responsibility: How safe should blood be? *Journal of Medical Ethics* 44: 187-191.
- Wellcome Trust. 2014. First volunteers to receive blood cultured from stem cells in 2016. Retrieved November 18, 2019, from Press Release website: <https://wellcome.ac.uk/press-release/first-volunteers-receive-blood-cultured-stem-cells-2016>.
- Wiener, A.S. 1933. History of blood transfusion. *Journal of the American Medical Association* 100: 208-209.
- Winslow, R.M. (Ed.). 2006. Introduction. In *Blood Substitutes*. California: Elsevier Academic Press.
- Wood, C.S. 1967. A short history of blood transfusion. *Transfusion* 7: 299-303.
- Yang, C.T., Ma, R., Axton, R.A., Jackson, M., Taylor, A.H., Fidanza, A., Mountford, J.C. & Forrester, L.M. 2017. Activation of KLF1 enhances the differentiation and maturation of red blood cells from human pluripotent stem cells. *Stem Cells* 35: 886-897.
- Yung, S., Ledran, M., Moreno-gimeno, I., Conesa, A., Montaner, D., Dopazo, J., Dimmick, I., Slater, N.J., Marenah, L., Real, P.J., Paraskevopoulou, I., Bisbal, V., Burks, D., Santibanez-Koref, M., Moreno, R., Mountford, J., Menendez, P., Armstrong, L. & Lako, M. 2011. Large-scale transcriptional profiling and functional assays reveal important roles for Rho-GTPase signalling and SCL during haematopoietic differentiation of human embryonic stem cells. *Human Molecular Genetics* 20: 4932-4946.
- Zarshenas, M.M. & Zargarani, A. 2015. A review on the Avicenna's contribution to the field of cardiology. *International Journal of Cardiology* 182: 237-241.

Mislia Othman  
Muhammad Azrul Zabidi  
Regenerative Medicine Cluster  
Advanced Medical and Dental Institute  
Universiti Sains Malaysia  
Bertam, 13200 Kepala Batas  
Pulau Pinang, Malaysia.

\*Corresponding author: [azrul.zabidi@usm.my](mailto:azrul.zabidi@usm.my)