

Über die Notwendigkeit und Voraussetzungen einer standardisierten Herstellung von plättchenreichem Plasma (PRP) für die evidenzbasierte Medizin

Die Weltgesundheitsorganisation gibt vor, dass zur Qualitätssicherung der Produktionsabläufe und -umgebungen in der Produktion von Arzneimitteln, Wirkstoffen und Medizinprodukten die Grundsätze der „Good Manufacturing Practice“ (GMP) eingehalten werden müssen. Die regulatorischen Vorgaben sind detailliert in verschiedenen Richtliniendokumenten (EU-GMP-Leitfaden, FDA, PIC/S¹) fixiert und stellen z. B. innerhalb der Europäischen Union sicher, dass gleiche Mindeststandards bei der Herstellung von Arzneimitteln eingehalten werden.

Damit ein Herstellungsprozess als zuverlässig gelten kann, wird am Endprodukt getestet, ob der Prozess, unter Verwendung der hierzu bestimmten Geräte und bei gleichen äußeren Randbedingungen, sicher reproduzierbar das beabsichtigte Ergebnis erzielt. Die Bereitstellung geeigneter Verfahrenstechniken stellt demnach einen wichtigen Baustein im Gesamtprozess einer Herstellung dar; dementsprechend definiert das Medizinproduktegesetz strenge Anforderungen an das hierfür verwendete Medizinprodukt. Dies gilt selbstverständlich auch für die Herstellung von plättchenreichem Plasma zur autologen Re-Infusion (PRP) – ein herstellungserlaubnisfreies Arzneimittel², welches seit Beginn der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts stark zunehmend³ das Interesse der Regenerativen Medizin und anderer Fachgebiete weckt.

PRP – Großes Interesse und überzeugende Ergebnisse

PRP steht auf Grund seiner hohen Konzentration an Fibrinogen und anderen Gerinnungs-molekülen, essenziellen Zellnährstoffen, und zahlreichen bio-aktiven Molekülen, sowie an von den Thrombozyten freigesetzten Wachstumsfaktoren, Zyto- und Chemokinen, im Fokus der Forschung (z. B. Reproduktionsmedizin) und wird bereits in zahlreichen medizinischen Fachdisziplinen (u. a. Augenheilkunde, Biomedizin, Dermatologie, Gynäkologie, Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie, Orthopädie, Plastische Chirurgie, Regenerative Medizin, Sportmedizin, Urologie, Veterinärmedizin, Zahnmedizin) überall dort eingesetzt, wo entzündungshemmende, heilungs- und/oder wachstumsfördernde Prozesse gezielt (lokal begrenzt) getriggert werden sollen. Typische PRP-Anwendungsbereiche sind daher die Therapien von Arthropathien, Keratitiden, akuten und chronischen Sehnenentzündungen, sowie anderen Weichteilverletzungen, wie z. B. chronische dermale Wundheilungsstörungen, aber auch von Knochendefekten.

Zu Recht kann autologes PRP als ein vollständig autologes Therapeutikum bezeichnet werden. Mit der PRP-Therapie eröffnet sich ergänzend zu den konservativen Therapien eine kosteneffektive, jederzeit verfügbare, nebenwirkungsarme und einfach anzuwendende Therapieoption.

PRP – Kontroversen und berechtigte Kritik

Trotz der zahlreichen Therapieerfolge durch den Einsatz von PRP, werden auch ebenso kritische Stimmen erhoben, welche berechtigt auch auf die von einigen qualitativ sehr hochwertigen klinischen Studien aufgezeigten mäßigen oder nicht-schlüssigen Behandlungserfolge mit geringen Signifikanz- und Evidenzniveaus verweisen. Dieser vermeintliche Widerspruch in der klinischen Effizienz von PRP wird häufig zu Recht unter anderem auf die fehlende verbindliche Definition von „PRP“ und von nicht festgelegten Standards bei den Herstellungs- und Anwendungsprotokollen zurückgeführt. Faktisch ist es bisher nicht möglich, allgemein über die Wirksamkeit des Arzneimittels „PRP“ zu sprechen. Zu Recht wird von Ärzten und Wissenschaftlern zunehmend gefordert, ein noch größeres Augenmerk auf die Standardisierung der Herstellungsabläufe, die Reduktion möglicher Fehlerquellen und die richtige Auswahl des jeweiligen PRP-Präparats für den klinischen Einsatz zu legen und u. a. dieses Problemfeld durch eine Konsensfindung verbindlich zu klären.

Aktuelle Situation

Da gezeigt werden konnte, dass allein die Unterschiede der PRP-Zusammensetzungen durch verschiedene Herstellungsverfahren klinische Relevanz haben können, ist eine technisch basierte

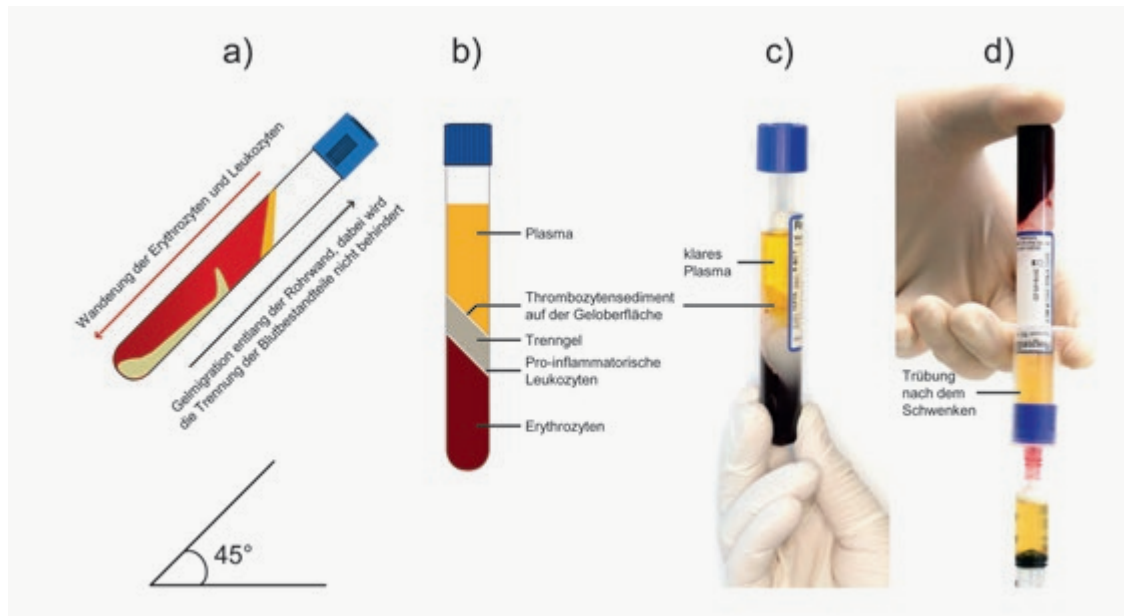


Abb. 1a–d

Abb. 1a–d

Zentrifugenröhrchen mit vorgelegtem thixotropen Regen Lab®-Trenngel.

a) Die Zentrifugation erfolgt in einer 45° Festwinkelzentrifuge, was das gegenläufige Wandern der Erythrozyten und pro-inflammatorischen Leukozyten („nach unten“) und fließfähig gewordenem Trenngel („nach oben“), zusammen mit dem Plasma und Thrombozyten, begünstigt.

b) Mit dem Abbremsen der Zentrifuge verfestigt sich das Trenngel und der Winkel des Röhrchens in der Zentrifuge bleibt auch nach der Entnahme des Röhrchens sichtbar. Die auf der dauerhaft festen und abdichtenden Geloberfläche liegenden Thrombozyten werden durch leichtes Überkopfschwenken in das Plasma resuspendiert.

c) Zentrifugierte Blutprobe vor dem Schwenken. Deutlich ist die in b) gezeigte schräge Schichtung des Trenngels zu erkennen.

d) Das fertige Regen PRP® kann problemlos in die Applikationsspritze überführt werden; die Trübung wird durch die resuspendierten Thrombozyten verursacht. Zwischen Blutabnahme (≈8 ml) und Injektion von 4–5 ml Regen PRP® vergehen nur 10 Minuten.

Standardisierung bezüglich der PRP-Herstellung ein erster wichtiger Schritt zur Verbesserung der klinischen Ausgangslage.

Betrachtet man die aktuell am Markt befindlichen Systeme zur Herstellung von PRP, so fällt die Vielfalt an Technologien und, damit verbunden, an verschiedenen Herstellungsprotokollen auf, die zudem unterschiedliche Anforderungen an die Qualifikation und jeweils situative Geschicklichkeit des Anwenders stellen.

Es ist naheliegend, dass die darauf basierenden unterschiedlichen PRP-Präparate auch unterschiedliche Zusammensetzungen aufweisen können, so sehr, dass die jeweils damit erzielten Behandlungserfolge – aber auch therapeutische Misserfolge – nicht schlüssig vergleichbar sind.

Standpunkt der Regen Lab SA

Die Regen Lab SA ist der Überzeugung, dass nur mit standardisiert und vom Anwendergeschick unabhängig herstellbaren PRP-Präparaten sich Ergebnisse und Aussagen mit hoher Vertrauenswürdigkeit erzielen lassen, die dann, mit einem hohen „Evidenz-Level“ versehen, sich in Leitlinienprogrammen niederschlagen.

Regen PRP® – ein neuer Standard?

Das von der Regen Lab SA entwickelte alternative Ein-Schritt-Trennverfahren⁴ zur Herstellung von granulozytenarmen PRP, dem Regen PRP®, hat in den vergangenen Jahren – in über 3,5 Millionen Anwendungen in über 70 Ländern – seine Leistungsfähigkeit unter Beweis gestellt.⁵

Das am Point-of-Care eingesetzte Medizinprodukt ermöglicht in einem jederzeit geschlossenen System⁶ ein hochgradig standardisiertes Herstellungsverfahren („plug-and-play“, „One-Step-Closed-System“, **Abb. 1**) und erfüllt die strengen regulatorischen Anforderungen⁷ an Medizinprodukte für die Transfusionsmedizin sowie die maßgeblichen Vorgaben der EU-Arzneimittel-Agentur (EMA).

Es ist durch eine Thrombozytenausbeute von mindestens 80 % und nur sehr geringen Kontaminationen an antagonistisch wirkenden neutrophilen Granulozyten ($\leq 3,3$ %) und Erythrozyten ($\leq 0,3$ %) und damit mit einem für die Therapie günstigem Zellprofil gekennzeichnet. Im Präparat ist die Thrombozytenkonzentration gegenüber dem peripheren Blut um den Faktor $\approx 1,6$ erhöht. Gemäß des PAW-Klassifikationssystems (Platelets-Activation-White Blood Cells) nach DeLong gehört Regen PRP® zur Gruppe der „P2-B β “-PRPs (**Abb. 2**).

Regen PRP® zeichnet sich durch die Wiederfindung von Thrombozyten aus allen Phasen ihres Lebenszyklus mit einer besonders hohen Ausbeute an Wachstumsfaktoren aus.⁸ Durch die Verwendung von anti-pyrogenen Borosilikat-Röhrchen, Tri-Natriumcitrat-Antikoagulanslösung,⁹ und einer mit fest eingestellter Drehzahl (bzw. definierter relativer Zentrifugalbeschleunigung von 1.500 g) sehr vibrationsarmen Zentrifuge wird sichergestellt, dass die Thrombozyten bei hoher Viabilität und Funktionalität überwiegend die zur optimalen Anregung des Heilungsprozesses passende (Vor-) Aktivierung aufweisen.

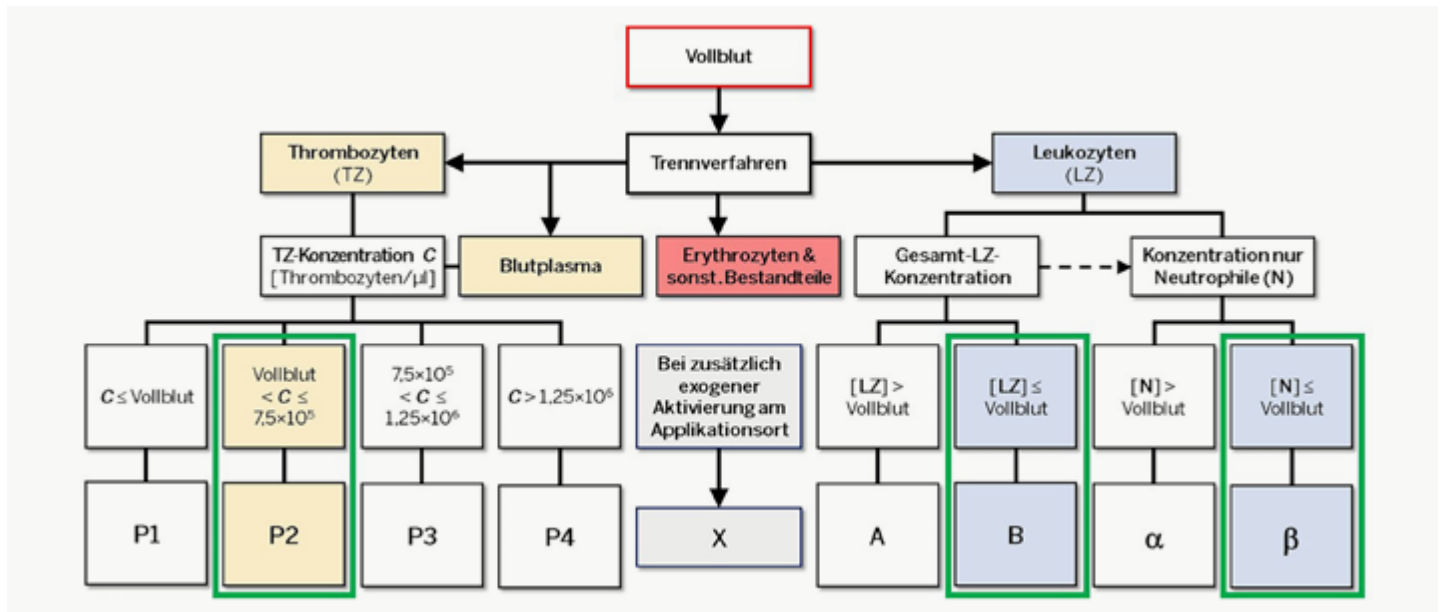


Abb. 2

CELLULAR MATRIX® – eine konsequente Erweiterung von Regen PRP®

Das autologe Regen PRP® kann auch als Grundlage für die Präparation weiterer Applikationen mit PRP als Komponente dienen.¹⁰

Unter anderem wurde hierzu speziell für die Behandlung der Kniearthrose die Hybrid-Arthrose-Therapie mit CELLULAR MATRIX® entwickelt (Abb. 3). CELLULAR MATRIX® erlaubt die einfache und sichere Aufbereitung einer Mischung aus Regen PRP® und 2 ml nicht-vernetzter Hyaluronsäure¹¹ als Medizinprodukt der Klasse III – in einem geschlossenen System und in einem Herstellungsschritt.

Mit der Kombination aus gewebergenerierendem Regen PRP® und bei der Arthrose-Therapie bewährter Hyaluronsäure können beträchtliche Behandlungserfolge im Kniegelenk erzielt werden. Dabei bildet die auch in der Synovialflüssigkeit natürlich vorkommende Hyaluronsäure ein bioaktives Gerüst, durch das die Thrombozyten über einen längeren Zeitraum schrittweise ihre Wachstumsfaktoren in der Zielregion ausschütten können; gleichzeitig übt Regen PRP® keinen negativen Effekt auf die mechanischen, elastischen oder viskosen Eigenschaften der Hyaluronsäure aus.

Untersuchungen zeigen, dass die direkte Kombination in CELLULAR MATRIX® gegenüber den jeweiligen Einzelanwendungen von Regen PRP® und Hyaluronsäure in ihren klinischen Ergebnissen durch synergistische Effekte z. T. deutlich überlegen ist. Insbesondere bei frühzeitiger Anwendung kann eine Eskalation des Krankheitsbilds gebremst und eine aufwändige Operation ggf. vermieden werden.

Fallbeispiel

Im Folgenden werden die Resultate einer Regen PRP®-Behandlung bei einer Patientin mit Arthrose im oberen Sprunggelenk vorgestellt. Durch einen Unfall kam es 1959 zu einer nach mehrfachen Operationen notwendigen Vorfuß-Amputation. Einige deskriptive Patientendaten in Kürze: 81 a, BMI = 23,3 kg/m², orthopädische Diagnosen u. a.: Z. n. Vorfußamputation nach Pirogoff links (M20.3), Z. n. Kniegelenksprothese rechts (Z96.65), Daumensattelgelenkarthrose rechts (M18.9). Kontinuierliche Schmerztherapie mit Ibuprofen und regelmäßig intermittierende Maßnahmen wie Krankengymnastik seit mehreren Jahren.

Verschlechterung des Krankheitsbilds auf Grund fortschreitender Arthrose (Abb. 4). Daraus resultierend zunehmende Immobilität und Reduktion der subjektiven Lebensqualität sowie drohende Amputation des Unterschenkels zur Ausbildung eines Schienbeinstumpfes als nächste Rückzugsmöglichkeit.

Ende 2019 Versuch einer konservativen Therapie mit 3 × Regen PRP® (0-60-120 Tage); es wurden jeweils nach Stichkanalanästhesie ca. 3 ml Regen PRP® mit einer 27G Nadel langsam in das anteromediale Portal des linken oberen Sprunggelenks, unter Beachtung steriler Kautelen und, aufgrund der veränderten Anatomie, unter sonographischer Kontrolle, injiziert. Unerwünschte Nebenwirkungen im Zusammenhang mit der Therapie wurden nicht beobachtet. Adjuvant wurde Physiotherapie des betroffenen Gelenks, beginnend jeweils vier Tage postinterventionell, verordnet.

Abb. 2

PAW-Klassifikationssystem (Platelets-Activation-White Blood Cells) nach DeLong und Einstufung des Regen PRP® als „P2-Bβ“-PRP. Sollte aus bestimmten therapeutischen Gründen ein höher konzentrierteres leukozyten-armes PRP benötigt werden, kann – vor der Resuspension der auf dem Trenngel liegenden Thrombozyten – ein Teil des überstehenden plättchenarmen Plasmas (Platelet-Poor Plasma, PPP) aus dem Zentrifugenröhrchen entnommen werden, um ein PRP der Qualität „P3-Aβ“ zu erhalten. Wird das PRP am Applikationsort zusätzlich exogen aktiviert (z. B. durch Zugabe von Thrombin, CaCl₂, Calciumglukonat, oder Typ I Collagen) wird die Notation durch Einfügen eines „x“ erweitert. Ein Beispiel hierzu ist der Einsatz von Regen PRP® plus Regen ATS (autologes Thrombinserum) als Spray zur Wundabdeckung; das applizierte PRP wird dann als „P2-x-Bβ“ eingestuft.



Abb. 4a–d

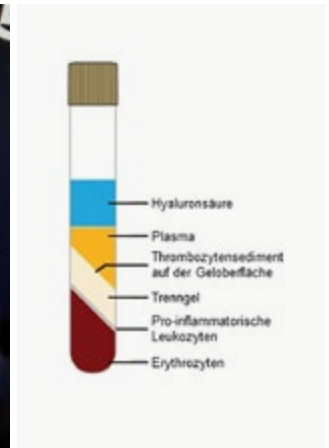


Abb. 3

Abb. 3

Die im Röhrchen vorgelegte Hyaluronsäure trennt sich mit dem Plasma und den Thrombozyten von den übrigen Blutbestandteilen. Vor Überführung in die Injektionsspritze wird der Überstand aus Regen PRP® und HA durch leichtes Überkopfschwenken homogenisiert.

Abb. 4a–d

Entwicklung der Arthrose im Sprunggelenk (a, b: 2017 c, d: 2019). Zu erkennen ist eine deutliche Verschlechterung des Zustands, mit der Folge eines enormen Mobilitätsverlusts und der Gefahr einer Amputation. Die Patientin war 2017 nur noch im Zimmer bzw. auf der Etageebene mobil und läuft seit Beginn der Regen PRP®-Behandlung wieder weitestgehend schmerzmittelfrei.

Im Rahmen einer Nachuntersuchung vier Wochen nach der letzten Regen PRP®-Injektion berichtet die Patientin über eine „nahezu Beschwerdefreiheit“, deutlich verbesserte Mobilität und Vergrößerung des Bewegungsradius, die ihr wieder eine aktive Teilhabe ermöglicht. Seit nunmehr 10 Monaten anhaltend besteht eine deutlich verbesserte Lebensqualität. Aus ärztlicher Sicht bildete sich die inflammatorische Komponente der aktivierten Arthrose zurück. Bei deutlich reduzierten lokalen Entzündungszeichen konnte der galoppierende Progress der Erkrankung gebremst und letztendlich die drohende Amputation zumindest relevant herausgezögert werden.

Schlussfolgerung

Das Regen Lab-Verfahren unter Verwendung eines thixotropen Trenngels liefert zuverlässig – handhabungssicher – eine vom Anwender unabhängige intra-individuelle¹² und reproduzierbare Produktqualität mit optimalen therapeutischen Eigenschaften, ohne die präparativen Fallstricke und den damit verbundenen Zugeständnissen an die Produktqualität, welche alternative Herstellungs-

methoden aufweisen können. Die „plug-and-play“-Technologie erlaubt eine reibungslose Integration in den organisatorischen Praxisablauf.

Die von den medizinischen Fachgesellschaften geforderte standardisierte Qualität für PRP-Produkte wird von Regen PRP® zuverlässig und anwenderunabhängig realisiert.

Die notwendigen präparativ-technischen Voraussetzungen für erfolgreiche sequenzielle Therapie-strategien¹³ sowie für aufeinander aufbauende und vergleichende klinische Studien sind damit grundsätzlich gegeben.

Literatur auf Anfrage bei Regen Lab SA

Dr. rer. nat. habil. Norbert Laube
Regen Lab SA
sekretariat@regenlab.com

M.Sc. Christoph Wille
Regen Lab SA

Thorsten Anlauf
FA für Orthopädie und Unfallchirurgie
Die Sporthopaden, Facharztzentrum für
Orthopädie
und Unfallchirurgie Anlauf & Kollegen,
58135 Hagen

- 1 Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (PIC/S)
- 2 Bei PRP handelt es sich grundsätzlich um ein herstellungserlaubnisfreies Arzneimittel i.S.d. § 2 Abs. 1 AMG. PRP ist darüber hinaus eine Blutzubereitung i.S.v. § 4 Abs. 2 AMG bzw. ein Blutprodukt i.S.v. § 2 TFG.
- 3 Das wissenschaftliche Interesse an PRP wächst seit den vergangenen 20 Jahren eindrucksvoll, was eine nur grobe Pubmed-Abfrage zu den Suchbegriffen „platelet-rich-plasma“ und „PRP“ belegt: Wurden für die Jahre 2000–2009 noch 766 Publikationen erfasst, waren es in den Jahren 2010–2020 bereits 4.779.
- 4 Zahlreiche Patente für die Regen Lab®- und RegenKit®-spezifische PRP-Herstellung.
- 5 Die Medizinprodukte sind CE-zertifiziert und von den meisten nationalen Behörden weltweit zugelassen.
- 6 Die Verwendung eines geschlossenen und damit kontaminationsfreien Systems zur Blutentnahme und -aufbereitung reduziert u. a. das Risiko für nosokomiale Infektionen und erfüllt die höchsten Anforderungen an die hygienische Sicherheit von Patient und Behandlungspersonal sowie die EMA-Statuten für PRP.
- 7 Die zur Herstellung von Regen PRP® und CELLULAR MATRIX® eingesetzten Zentrifugenröhrchen sind Medizinprodukte der Klasse IIb bzw. III.
- 8 Die häufig als Referenz verwendete nominelle Höhe der „Thrombozytenausbeute“ kann nicht als hinreichendes Qualitätsmerkmal gelten. Entscheidend hingegen ist, dass die eingesetzte Technik und die gewählten Prozessparameter so aufeinander abgestimmt sind, dass die im PRP angereicherten Thrombozyten einerseits möglichst frei von antagonistisch wirkenden

- 9 Blutbestandteilen sind und andererseits gleichzeitig eine für die am Wirkort günstige Voraktivierung aufweisen. Aus therapeutischer Sicht ist das Verhältnis von anabolen zu katabolen Wirkstoffen die für die Charakterisierung einer PRP-Qualität zielführende Kennzahl.
- 10 Die verwendete 4%-ige Na₂-Citrat-Lösung zeichnet sich durch einen nahezu blutphysiologischen pH-Wert von ≈7 (Blut: 7,36 bis 7,44) und eine die Thrombozyten schonende Osmolarität (Verzicht auf D-Glukose → ACD-A-Lösung) aus. Die im Röhrchen vorgelegte Menge ist so abgestimmt, dass die sich im abgenommenen Blutvolumen befindlichen (plasmatischen) Ca-Ionen von den Citrationen quantitativ abgefangen (Chelatkomplexbildung) und reversibel gebunden werden. Hierdurch wird die Ca-getriggerte Gerinnungskaskade solange unterbrochen, bis das Regen PRP® injiziert wird und interstitielles Calcium aufnimmt (→ Fibrinpolymerisation); das nun an der Injektionsstelle koagulierende Regen PRP® kann – den Therapieerfolg begünstigend – nur noch langsam diffundieren.
- 11 Das Trenngelverfahren dient hierbei als ausbaufähige Technologieplattform.
- 12 Vorlage von 2 ml unvernetzter Hyaluronsäure (20 mg/ml), hergestellt durch bakterielle Fermentation und daher frei von tierischen Proteinen.
- 13 Da intra-individuelle Schwankungen der Blutparameter, z. B. in Abhängigkeit des circadianen Rhythmus bestehen (u. a. Tageszeit, Nahrungsaufnahme, Medikamenteneinnahme), empfehlen wir die Blutabnahme bei einem nüchternen Patienten und bei möglichst gleichen Rahmenbedingungen durchzuführen. Interindividuelle Unterschiede in der PRP-Zusammensetzung lassen sich auch unabhängig der PRP-Herstellungsmethode beobachten; sie ergeben sich u. a. aus dem Alter, Geschlecht und der Ernährungsweise.
- 14 Zur Behandlung der Gonarthrose ergibt sich eine hochpotente Therapiealternative zu „Cortison oder OP“.

RegenLab® ist ein führender Entwickler und Hersteller von Medizinprodukten für die Aufbereitung von plättchenreichem Plasma auch in Kombination mit Hyaluronsäure.

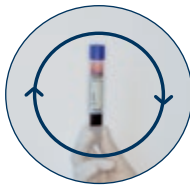
- standardisierte PRP-Herstellung
- patentierte Technologien
- sicheres und geschlossenes System
- kurze Lernkurve und einfache Anwendung
- leicht in bestehende Praxisabläufe zu integrieren

Da uns Aufklärung und Standardisierung im Bereich PRP ein großes Anliegen sind, bieten wir über unsere Stiftung BioBridge verschiedene Weiterbildungsangebote an:

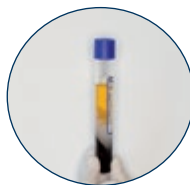
- Webinare
- Vorträge
- Workshops
- Bücher



Blutentnahme



Zentrifugation



Resuspension



gebrauchsfertig

REGENKIT®

Regen PRP®

Das sichere & effektive leukozytenreduzierte plättchenreiche Plasma



Bestimmungsgemäße Verwendung des Produkts
Aufbereitung von autologem plättchenreichem Plasma und anderen plasmabasierten Produkten

CELLULAR MATRIX®

Regen PRP® + Hyaluronsäure

Die Hybrid-Arthrosetherapie mit CELLULAR MATRIX® kombiniert Regen PRP® und Hyaluronsäure synergetisch für noch bessere Ergebnisse bei Patienten mit Kniearthrose.*



Bestimmungsgemäße Verwendung des Produkts
Produkt zur Aufbereitung intraartikulärer Injektionen in das Knie zur Behandlung von artikulärem Schmerz und zur Verbesserung der Mobilität.

RegenKit PRP Plus

Autologes Thrombinserum

Plättchenaktivierung auf physiologischem Weg zur Anwendung von Regen PRP® in Form von autologem Fibrinkleber oder in Kombination mit Minced Tissue*



Bestimmungsgemäße Verwendung des Produkts
Aufbereitung von autologem plättchenreichem Plasma und anderen plasmabasierten Produkten