



Hyaluronsäure – in vielen Filmen eine vielgestaltige Akteurin mit tragender Rolle

Dr. rer. nat. habil. Norbert Laube, Regen Lab SA
M.Sc. Christoph Wille, Regen Lab SA

Ein Artikel aus dem BVOU Infobrief Ausgabe 02/22

Mehr Informationen zur Trenngeltechnologie und
unseren Produkten finden Sie unter

www.regenlab.de

Hyaluronsäure – in vielen Filmen eine vielgestaltige Akteurin mit tragender Rolle

Die zur Stoffklasse der (Poly-)Saccharide gehörende Hyaluronsäure zeichnet sich durch eine langkettige lineare Molekülstruktur aus; u.a. variable Molekulargewichte und 3D-Strukturen führen zu unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften. Dies ermöglicht dem Biopolymer im Körper verschiedene komplexe biologische Rollen bzw. Funktionen zu übernehmen. Diese vielfältigen Eigenschaften machen biotechnologisch hergestellte (exogene) Hyaluronsäure für den Einsatz als bioaktiven Wirkstoff bzw. „biokompatibler resorbierbarer biochemischer Gerüstbaustein“ für ein breites Spektrum medizinischer Anwendungen, sowohl in vitro als auch in vivo, interessant. Dabei wird zunehmend die Notwendigkeit einer jeweils auf den Applikationszweck angepassten Molekülstruktur deutlich. In Verbindung mit leukozytenreduziertem plättchenreichem Plasma (Regen PRP®) bildet eine auf den Einsatzzweck optimal abgestimmte Hyaluronsäure ein synergistisches Duo in der intra-artikulären Behandlung der Arthrose – die CELLULAR MATRIX®.

Einführung

Die Hyaluronsäure (HA) wurde 1934 von Karl Meyer und John Palmer im Kammerwasser von Rinderaugen entdeckt. Die zu den Uronsäuren gehörende Verbindung erhielt ihren Namen auf Grund ihrer durchsichtig-glasigen Eigenschaft, aber auch dem Entdeckungsort, dem Glaskörper.

Seitdem wurde ein weites Spektrum variabler physiko-chemischer Eigenschaften aufgedeckt, was sie in der Natur vielfältige biochemische und zellbiologische Rollen übernehmen lässt: sie findet sich als wichtiger Bestandteil z.B. in Biofilmen, im Knorpelgewebe und der Haut. Hyaluronsäure ist die einzige bekannte polymere Substanz, die in allen Geweben und Körperflüssigkeiten von Vertebraten als auch in Wildstämmen einiger Mikroorganismen sowie in Chlorella-Algen oder Muscheln vorkommt.

Aber auch für den Einsatz in verschiedenen (human-)medizinischen, biomedizinischen, biotechnischen und kosmetischen Anwendungsgebieten ist die Hyaluronsäure zunehmend interessant.

Im menschlichen Organismus ist die Hyaluronsäure das häufigste Glykosaminoglykan und ubiquitär sowohl extra- als auch intrazellulär vorhanden. Sie wird durch das körpereigene membranständige Enzym Hyaluronsynthetase (HAS) v.a. in den Chondro- und Synoviozyten, aber auch in anderen Zellen, wie den Fibroblasten, synthetisiert; von dort wird sie direkt durch die Plasmamembran in den peri- und extrazellulären Raum sezerniert.

Auf Grund ihrer hohen Wasserbindungskapazität ($\leq 6 \text{ l H}_2\text{O/g HA}$) besitzt HA augmentative Funktionen. Sie kommt im Körper vor allem dort vor, wo zur Aufrechterhaltung der Funktionalität Wasser gespeichert oder Grenzflächen u.a. reibungsmindernd beschichtet werden müssen. Besonders

hohe Konzentrationen finden sich daher z.B. in und auf den Augen, zwischen den Fasern des Bindegewebes, in der Knorpelmatrix, der Synovialflüssigkeit, der Haut, aber auch der Aorta und Nabelschnur, wo sie für eine feste und elastische Beschaffenheit des Gewebes sorgt und die Gefäße vor Stauchung und Abknickung schützt.

Struktur und Eigenschaften

Native Hyaluronsäure gehört zur Gruppe der linearen sauren Polysaccharide und ist, wegen ihres Aufbaus aus mehr als einer einzigen Art monomerer Einfachzucker, ein Heteropolysaccharid.

Die HA ist ein relativ einfach gebautes, unverestertes Glycosaminoglykan und besteht aus Disaccharid-Einheiten, in denen N-Acetylglucosamin und Glucuronsäure abwechselnd $\beta(1\rightarrow3)$ und $\beta(1\rightarrow4)$ glykosidisch verknüpft sind. Durch die ungewöhnliche $\beta(1\rightarrow3)$ -Verknüpfung sind HA-Moleküle, die einige tausend Monosaccharid-Reste enthalten können, helixartig gewunden. Die **Abb. 1** verdeutlicht die chemische Struktur des Biopolymers.

Die HA gehört zu den mittelstarken bis schwachen Säuren (Säurekonstante pK_s der Carboxylgruppe, $-\text{COOH}$, $\approx 3,21$). Die zahlreichen negativen Ladungen erzeugen einen hohen osmotischen Druck, durch welchen sich die hohe Wasseraufnahmefähigkeit ergibt.

Hyaluronsäure verleiht dem Gewebe wegen ihres Wassergehalts und dem daraus resultierendem Quellvermögens ein hohes Maß an Druckbeständigkeit. Das im Gelenkknorpel gebundene Wasser kann im Fall einer Druckbelastung nach außen abgegeben werden und nach Entlastung wieder aufgenommen werden.¹ Der gesunde Gelenkknorpel übt mit dieser Funktion Stoßdämpfungseigenschaften aus.

¹ Hierdurch entsteht zusätzlich eine mechanisch induzierte Konvektion der Interstitialflüssigkeit. Gleichzeitig wird die Synovialflüssigkeit gleichmäßig auf den Gleitflächen verteilt und deren Produktion angeregt.

Die biochemischen und viskoelastischen Eigenschaften der HA machen sie zu einer unverzichtbaren Komponente zur Sicherstellung der Gelenkhomeostase und einer physiologischen Gelenkfunktion. Aufgrund ihres strukturviskosen Verhaltens weist sie in Ruhe oder rein statischer Druckbelastung eine hohe Viskosität auf, denn unter diesen Bedingungen „verknäult“ sich das HA-Molekül und bildet im Gelenkspalt und Knorpelgewebe ein stabiles wasserreiches „Polster“ mit primärer Stütz- und Dämpfungs-Funktion aus. Bei Einwirkung von Scherkräften hingegen, wie sie im Gelenk zum Beispiel beim Gehen auftreten, verringert sich die Viskosität und ein gleitfähiger, aber dennoch reißfester Schmierfilm entsteht; dabei wird aber die Viskosität nicht soweit herabgesetzt, dass die Synovia aus dem Gelenkspalt gepresst werden kann. Dieser Wechsel der rheologischen Eigenschaften ist reversibel.

In Abhängigkeit der jeweiligen Molekülmasse und dem Vernetzungsgrad² ändern sich auch die funktionellen Eigenschaften:

- ▶ Wasserbindungskapazität
- ▶ Viskosität und Viskoelastizität
- ▶ Wasserlöslichkeit
- ▶ Haltbarkeit, Resistenz gegenüber enzymatischem Abbau

Exogene Hyaluronsäure für die (Visko-) Supplementationstherapie

Mit zunehmendem Alter sinkt die körpereigene Hyaluronsäure-Produktionsrate, was zu einer Unterversorgung des entsprechenden Gewebes führen kann; gleichzeitig sinkt die mittlere Größe des HA-Moleküls. Beides – niedrige HA-Konzentration und kurze Molekülketten – führt zu einer stark erniedrigten Viskosität der Synovialflüssigkeit und damit verbunden zu einer potentiellen (lokalen) Schädigung des Knorpelgewebes; letztere wiederum erhöht den HA-Mangel und mindert die HA-Qualität: ein Teufelskreis entsteht und mit zunehmender Ausbreitung Knorpelgewebes Schadens kann es zu synovialen Reizungen in Form einer aktiven Arthrose bzw. Osteoarthritis, aber auch zur Ausbildung von Tendinopathien, kommen.

Es liegt daher nahe, die alters- und krankheitsbedingten Verluste durch Injektion von exogener Hyaluronsäure (nahe) an den Ort des Mangels auszugleichen, um z. B. im Gelenk wieder günstige tribologische Eigenschaften herzustellen sowie die endogene HA-Produktion zu stimulieren. Zudem hat es sich gezeigt, dass dieses Vorgehen, insbesondere wenn es im Anfangsstadium der Beschwerden angewendet wird, in vielen Fällen bessere Wirkungen erzielt

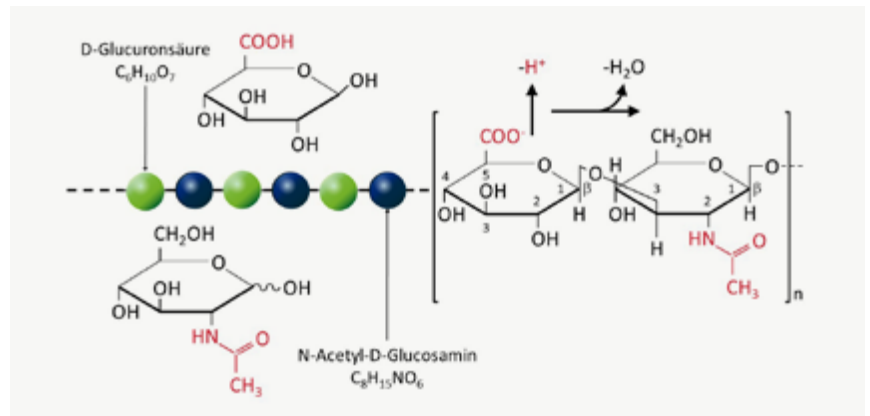


Abb. 1

als konventionelle Therapien mit zum Teil hohem Nebenwirkungspotential.³

Aktuell gibt es drei Verfahren, um HA für den therapeutischen Einsatz herzustellen:

1. Extraktion aus Hahnenkämmen oder Rinderaugen
2. Biotechnische Fermentation von pathogenen sowie nicht-pathogenen Mikroorganismen
3. In-vitro-Synthesierung durch isolierte Hyaluronsäure-Synthetase.

Hyaluronsäure ist nicht gleich Hyaluronsäure

Nur eine an den Einsatzzweck angepasste Molekülgröße stellt sicher, dass durch die Hyaluronsäure die gewünschten biologischen Effekte auch synergistisch ablaufen können.

Die Regen Lab SA verwendet konsequent für ihre, aus bakterieller Fermentation gewonnene, Hyaluronsäure beinhaltenden Produkte⁴ unterschiedliche, jeweils sorgsam auf die Bedürfnisse abgestimmte und mit physiologischem PufferpH stabilisierte, hochreine, nicht allergene, nicht immunogene und nicht pyrogene Hyaluronsäuren. Ein spezielles Herstellungsverfahren sichert ein hohes Molekulargewicht – auch nach 2-fachem Sterilisationsverfahren.

CELLULAR MATRIX®: eine optimale Verbindung von Regen PRP® mit einer sorgsam abgestimmten Hyaluronsäure-Matrix zur Behandlung der Gonarthrose

Die Applikation von autologem plättchenreichem Plasma in Verbindung mit Hyaluronsäure bietet sich überall dort an, wo gleichzeitig schmerzlindernde und regenerative Prozesse eingeleitet werden sollen. Die physiologisch gestörte und im schlimmsten Fall nicht mehr stattfindende Wundheilung wird eingeleitet, der Bereich zwischen den Zellen wird stabilisiert und die regenerativen Prozesse unterstützt.

Abb. 1

Grundstruktur der Hyaluronsäure aus alternierend aneinander gebundenen Disaccharid-Einheiten (hier: $\beta(1\rightarrow3)$). Die polyanionischen Ketten zeichnen sich durch eine enorme Konformationsfreiheit aus. Bei längeren Molekülsträngen bilden sich in wässriger Lösung auf Grund von H-Brückenbindungen zwischen den Acetamid- und Carboxylgruppen zufällige 3D-Sekundärstrukturen aus. Bei sehr großen Molekülen formen sich aufgrund der $\beta(1\rightarrow3)$ -Bindung 3D-Einfach- oder Doppelhelices aus.

² Die Molekülstränge können zusätzlich chemisch über die Carboxyl- (-COOH) und Hydroxylgruppen (-OH) quervernetzt (verestert) werden. Hierzu kommen DVS (Divinylsulfon), BDDE (1,4-Butanedioldiglycidylether) oder PEG (Polyethylenglykol) zum Einsatz. Reste des Quervernetzungsmittels müssen quantitativ entfernt werden, da sie teilweise zytotoxisch sind bzw. Ursache für unerwünschte Reaktionen sein können.

³ Unerwünschte Reaktionen beim Einsatz von HA sind selten und in der Regel auf vollständig reversible Nebenwirkungen – z. B. Hämatome, leichte Schwellungen und Rötungen – begrenzt.

⁴ RegenLab-Produkte: CELLULAR MATRIX® BCT-HA (Blood Cell Therapy); für Weichgewebe, VHA = VPRP; CELLULAR MATRIX® A-CP-HA (Autologous Conditioned Plasma); für Hartgewebe, VHA < VPRP.

Abb. 2

In einem Schritt zu einer optimalen Kombination aus Regen PRP® und HA⁷. In einem geschlossenen System, welches die Sicherheitsanforderungen eines Medizinprodukts der Risikoklasse III erfüllt, wird Regen PRP® mittels eines Trenngelverfahrens (I → II → III) hergestellt und trifft nach der Zentrifugation auf die im Zentrifugenröhrchen vorgelegte Hyaluronsäure. Durch sachttes Schwenken wird diese mit dem PRP homogenisiert (III → IV). Mit dem standardisierten Herstellungsverfahren wird immer ein CELLULAR MATRIX®-Produkt gleichbleibend hoher Qualität erhalten; unabhängig vom Anwender.

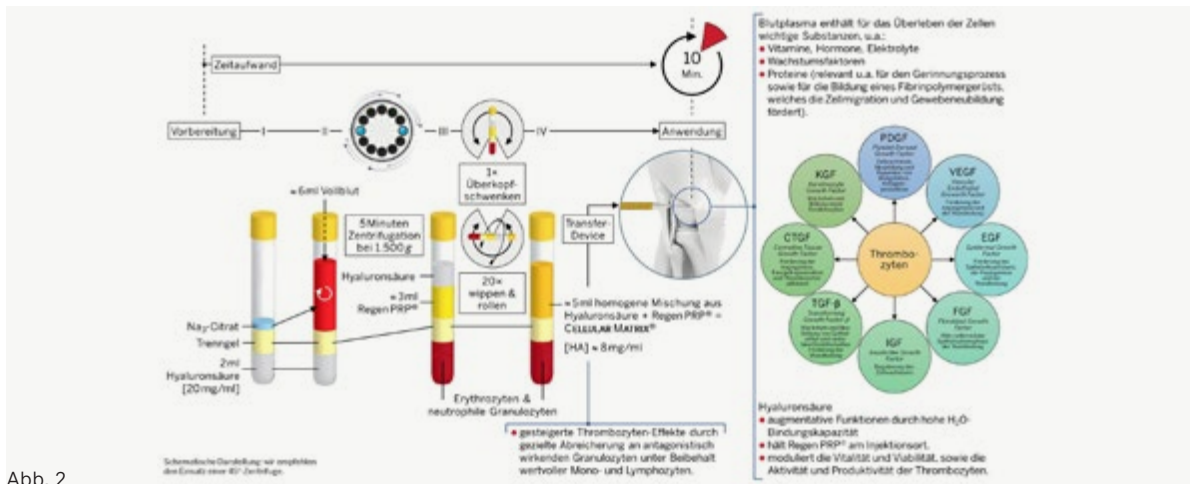


Abb. 2

Thrombozyten	Plasma	Hyaluronsäure
<ul style="list-style-type: none"> wichtige Rolle bei der Blutgerinnung Freisetzung zahlreicher Wachstumsfaktoren - Zytokine - Chemokine 	<ul style="list-style-type: none"> Wasserbindung (Kolloidmosse) Fremdstoffabwehr Transport von Zellnährstoffen und bioaktiven Molekülen Fibrin-Blutgerinnung Ausgangssubstanzen für Thrombus-Erzeugung Koagulationskaskade Fibrinolyse 	<ul style="list-style-type: none"> reguliert die Gelenkhomöostase anti-inflammatorisch reduziert die Gelenkreibung, dämpft die Stoßwirkung, wirkt der Knorpelabnutzung entgegen unterstützt - Sauerstoff- und Wirkstofftransport - Migration von Immunzellen - Wundheilung - Zellregeneration - Angiogenese beeinflusst - Zelldifferenziation und Zellbeweglichkeit - Phagozytose fixiert PRP am Injektionsort und moduliert die Wirkstofffreisetzung der Thrombozyten
Regen PRP® = Thrombozyten + Plasma <ul style="list-style-type: none"> neutralisiert das katabole Milieu entzündungshemmend hervorragende bioregenerative Wirkung bei der Behandlung verletzter Gewebe mit niedrigem intrinsischem Heilungspotential initiiert und koordiniert die Regenerationsprozesse u.a. durch - Bereitstellung essentieller Wachstumsfaktoren für die Stammzellenmigration, -differenzierung und -proliferation - Stimulation von Fibroblasten und Endothelzellen, somit auch der Anreicherung neuer extrazellulärer Matrix und der Neurovaskulation 		

Tab. 1

Abb. 3

Triade aus in CELLULAR MATRIX® synergistisch wirkenden Bestandteilen. Die einzelnen Komponenteneigenschaften (z. B. Volumina, Konzentrationen), sind, wie auch die Wahl der für die Herstellung eingestellten Zusatzbedingungen (z. B. Antikoagulans, pH-Puffer), optimal aufeinander abgestimmt. CELLULAR MATRIX® re-orchestriert die Interaktion der für das gestörte Synovialmilieu verantwortlichen Mitspieler, wodurch u. a. Entzündungen gelindert und Wundheilungsprozesse beschleunigt werden. Auch wird eine gerichtete Angiogenese gefördert und die Regeneration des Gelenkknorpels (u. a. durch „anlocken“ chondrogener Zellen) eingeleitet; **Tab. 1**.

Tab. 1

Wichtige Eigenschaften der in CELLULAR MATRIX® vereinigten Komponenten.

Unter anderem wurde hierzu speziell für die Behandlung der Kniearthrose die Hybrid-Arthrosetherapie mit CELLULAR MATRIX® entwickelt. CELLULAR MATRIX® erlaubt, ausgehend von einer 6 ml Vollblutprobe, die einfache und sichere Aufbereitung einer Mischung aus leukozytenarmen Regen PRP® und 2 ml nicht-quervernetzter Hyaluronsäure ([20 mg/ml]) als Medizinprodukt der Klasse III – in einem geschlossenen System und in einem Herstellungsschritt; die HA wird folglich vom Anwender nicht als „Extra“ zugegeben, sondern ist als Teil des zugelassenen Medizinprodukts bereits im System vorgelegt.⁵ Die HA-Konzentration im applikationsfertigen Produkt beträgt ca. 8 mg/ml.

Durch die mit der patentierten RegenLab-Einschritt-Trenngeltechnologie gewonnene injektionsfertige homogene PRP-HA-Mischung (**Abb. 2**) wird eine getrennte Applikation von Hyaluronsäure und PRP vermieden und so das Potential eines synergistischen Zusammenwirkens beider Komponenten bestmöglich eröffnet (**Abb. 3**).⁶ Auf Grund des zum Medizinprodukt gehörigen Transfer-Devices kann die fertige Regen PRP®-HA-Mischung steril in die Injektionsspritze überführt werden, weshalb CELLULAR MATRIX® besonders gerne im OP-Setting eingesetzt wird. Internationale Studien

bestätigen die Wirksamkeit von PRP und HA bei der Behandlung der Kniearthrose.

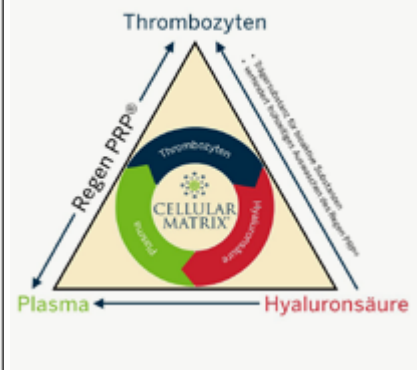
Zusammenfassung

In CELLULAR MATRIX® ist die HA so abgestimmt, dass die (bio-)mechanischen, physikochemischen und biologischen Effekte der Einzelkomponenten – Hyaluronsäure, Plasma, Thrombozyten – synergistisch das regenerative Potential des patienteneigenen Regen PRP® entfalten. Die eingesetzte Technologie erlaubt die standardisierte Herstellung einer reproduzierbaren CELLULAR MATRIX®-Aufbereitung, die sehr sauber und steril dem Zentrifugenröhrchen entnommen werden kann.

Hier kommt dem Herstellungsprozess, beginnend mit der HA-Quelle bis hin zur Sterilisation und Verpackung des Medizinprodukts, eine besondere Bedeutung zu.

Literatur auf Anfrage bei Regen Lab SA

Abb. 3



⁵ Eine manuelle Zugabe von HA in das Zentrifugenröhrchen führt unweigerlich u.a. zu einem offenen System und ist entsprechend abzulehnen.

⁶ Die getrennte Applikation führt unweigerlich zu unkontrollierbaren Qualitätsschwankungen; die für eine synergistische Wirkung notwendige homogene Mischung beider Komponenten in-vivo ist nicht sichergestellt.

⁷ Schematische Darstellung; wir empfehlen bei CELLULAR MATRIX® den Einsatz einer 45°-Zentrifuge.

Ansprechpartner: Für Ihre Fragen und Anmerkungen sowie für weitere Informationen stehen wir Ihnen gerne zur Verfügung. Bitte nehmen Sie mit uns über unsere Internetpräsenz <https://www.regenlab.de> Kontakt auf.