

Dr. Andreas Berke und Richard Färber

### Hyaluronsäure und trockenes Auge

Die Hyaluronsäure wurde erst im Jahre 1934 von Meyer und Palmer im Glaskörper des Rinderauges entdeckt. Es handelt sich hierbei um ein lineares, lang kettiges Polymer, das aus einer Grundeinheit bestehend aus D-Glucuronsäure und N-Acetyl-D-Glukosamin aufgebaut ist. Diese Grundeinheit kann sich bis zu 50 000 mal wiederholen, sodass das Molekulargewicht der Hyaluronsäure weit mehr als 1 Million Dalton betragen kann. Anders als die Glykosamine des Hornhautstromas ist die Hyaluronsäure nicht an Proteine gebunden, darüber hinaus enthält sie auch keine Sulfatgruppen. Die Hyaluronsäure vermag mehr Wasser zu binden als alle anderen natürlichen und synthetischen Glykosaminoglykane. Dies prädestiniert die Hyaluronsäure als ein effizientes Tränenersatzmittel.

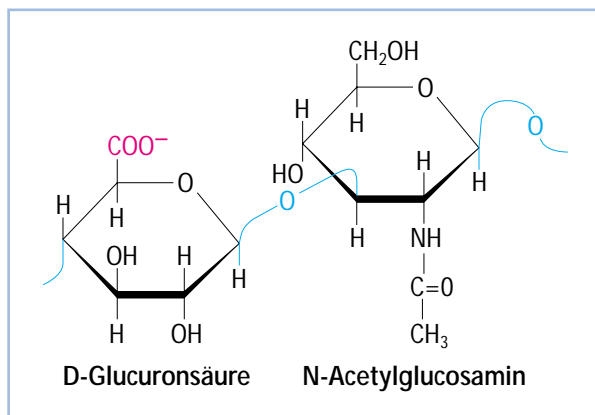


Abb. 1: Grundeinheit der Hyaluronsäure, bestehend aus D-Glucuronsäure und N-Acetylglucosamin. Diese Einheiten können sich bis zu 50.000 mal wiederholen. Die negativen Ladungen verursachen eine Abstoßung untereinander. Das Molekül bildet dann «Knäuel», in die Wasser eingelagert werden kann.

Die Hyaluronsäure wird besonders häufig in Bindegewebe, wo sie ein wichtiges Molekül der extrazellulären Matrix darstellt, angetroffen. Sie ist im Knorpel, in der Synovialflüssigkeit der Gelenke, in den Herzklappen aber auch in der Haut anzutreffen. Der Glaskörper des Auges, nach dem die Hyaluronsäure (hyalos = glasartig) benannt worden ist, ist reich an Hyaluronsäure. Zellen des Hornhautstromas und des Hornhautendothels sowie der Bindehaut sind ebenfalls in der Lage Hyaluronsäure zu produzieren. Nach Verletzungen des Epithels ist der Gehalt an Hyaluronsäure stark erhöht.

Die herausragenden viskoelastischen Eigenschaften des Moleküls sind für die mechanischen Eigenschaften der verschiedenen Bindegewebe – wie zum Beispiel Bandscheiben oder der Gelenke – verantwortlich. Knorpel und Sehnen erhalten durch die Wechselwirkung der Hyaluronsäure mit anderen Molekülen der extrazellulären Matrix ihre Zugfestigkeit und Elastizität. Die Hyaluronsäure beeinflusst neben dem Quellungszustand und der Benetzbarkeit von Geweben auch den Stofftransport im Körper. Weiterhin wirkt sie auf die Wanderung und die Differenzierung von Zellen ein. Hyaluronsäure vermag sich an spezifische

Rezeptoren (CD44, RHAMM, ICAM-1) auf den Oberflächen der verschiedensten Zellen zu binden. Dadurch ist sie auch in der Lage, akute und chronische Entzündungsreaktionen zu modulieren. Die Wundheilung, die ein komplexes Aufeinanderfolgen streng regulierter Reaktionen wie Entzündung, Bildung von Granulationsgeweben, Reepithelialisierung und Remodellierung, darstellt, wird an verschiedenen Stadien dieser Prozesse durch Hyaluronsäure moduliert.

Neben der kosmetischen Chirurgie, wo Hyaluronsäure zum Glätten von Hautfalten oder zur Modellierung von Lippen eingesetzt wird, gibt es auch ernsthafte Einsatzmöglichkeiten in der Orthopädie und Ophthalmologie. Bei Arthrosen der Kniegelenke und anderer grösserer Gelenke hat eine drei bis fünfmalige Injektion von Hyaluronsäure in das betroffene Gelenk eine deutliche Verbesserung der Symptome, die bis zu einem Jahr anhalten kann, bewirkt. Da die Hyaluronsäure 10 bis 20 Stunden nach der Injektion aus dem Kniegelenk wieder verschwunden ist, können nicht die viskoelastischen Eigenschaften der Hyaluronsäure für den Therapieerfolg verantwortlich sein. Vielmehr nimmt man an, dass durch Wechselwirkung mit CD44-, RHAMM- oder ICAM-Rezeptoren auf den Zellen der Gelenke (Chondrozyten, Synoviozyten, Entzündungszellen) pharmakologische Effekte hervorgerufen werden, die die Wanderung, Adhäsion und Aktivierung von proinflammatorischen Zellen, die Reifung und Differenzierung von Chondrozyten sowie die Synthese der extrazellulären Matrix des Knorpels stimulieren.

Seit vielen Jahren werden die viskoelastischen Eigenschaften der Hyaluronsäure in der Chirurgie des Auges ausgenutzt. Beispielsweise wird während einer Kataraktoperation Hyaluronsäure in die Vorderkammer gegeben, um das Hornhautendothel zu schützen und das vordere Auge zu stabilisieren. Mittels Hyaluronsäure lassen sich auch die Gewebe im Bereich des Operationsgebietes wieder rekonstruieren. Die im Auge befindliche Hyaluronsäure wird innerhalb kurzer Zeit durch physiologische Abbaumechanismen wieder aus dem Auge entfernt.

Die hervorstechenden physiko-chemischen Eigenschaften der Hyaluronsäure sind ihre Viskoelastizität bzw. Pseudoplastizität und die Mukoadhäsion. Die Fähigkeit zur Mukoadhäsion bindet die Hyaluronsäure an die Muzinschicht des Tränenfilms, wodurch eine lange Verweildauer am Auge erreicht werden kann. Die Viskosität der Hyaluronsäure ist einerseits hoch genug, um das Molekül bei geöffneten Lidern am Auge verweilen zu lassen, andererseits leistet das Molekül beim Lidschlag kaum Widerstand, da es auf Grund seiner viskoelastischen Eigenschaften leicht verformbar ist. Diese dem natürlichen Tränenfilm sehr ähnlichen Eigenschaften machen die Hyaluronsäure zu einem hervorragenden Tränenersatzmittel.

### 2. Material und Methoden

Es wurden 56 Personen im Alter von 18 bis 78 Jahren mit bekanntem trockenem Auge untersucht, davon waren 29 Versuchsteilnehmer Kontaktlinsenträger. Das Durchschnittsalter betrug 45 Jahre, die entsprechende Standardabweichung war 15 Jahre. 45 Versuchsteilnehmer waren weiblich und 11 männlich.

Hornhaut und Bindehaut wurden mit der Spaltlampe untersucht. Zur besseren Beobachtbarkeit der Epitheldefekte wurden diese mit Lissamingrün angefärbt. (Lissaver, Contopharma Interlaken, Schweiz).

Veränderungen der Augenoberfläche wurden nach dem Bewertungsschema von van Bijsterveld bewertet. Hierzu wird die Augenoberfläche in drei Bereiche eingeteilt und zwar in die Hornhaut sowie die temporale und nasale Bindehaut. Für jeden dieser drei Bereiche wurden entsprechend des Grades der Epithelveränderungen Punkte von 0 bis 3 verteilt, sodass maximal 9 Punkte erreicht werden konnten. Als schwere Veränderungen wurden Punktwerte von mehr als 3 angenommen.

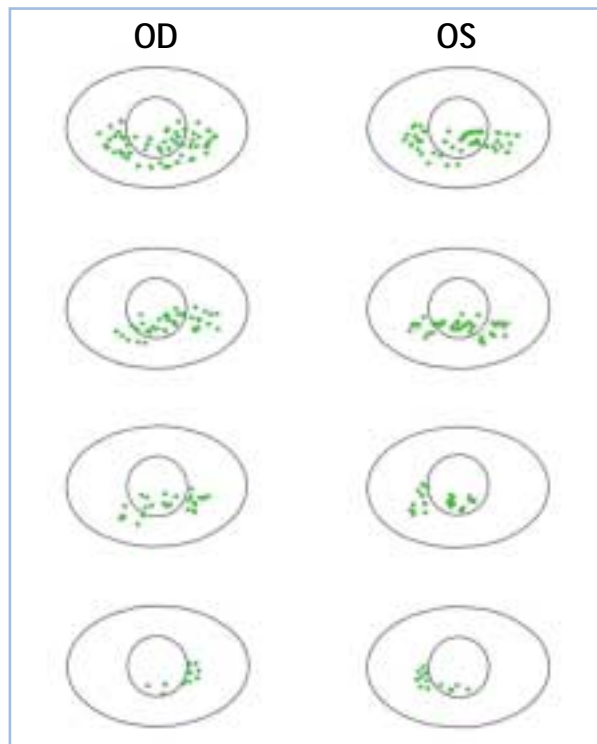


Abb. 2: Verlauf der Epithelrenewal bei einer 43jährigen Klientin nach 0, 1, 3 und 5 Tage Anwendung von Hyaluronsäure. Die grünen Punkte stellen die nach der Anfarbung mit Lissamingrün mit der Spaltlampe zu beobachtenden Epitheldefekte dar.

Nach einer ersten Untersuchungen sollten die Versuchsteilnehmer viermal am Tag Hyaluronsäure (drop & see, Contopharma Interlaken, Schweiz; HYCO SAN, MPG & E, Bordesholm Deutschland) am Auge anwenden. Am ersten, dritten und fünften Tag nach Beginn der Untersuchung wurden Hornhaut und Bindehaut der Versuchsteilnehmer erneut mit der Spaltlampe untersucht. Auch hier erfolgte eine Anfarbung der Epitheldefekte mittels Lissamingrün. Es wurde wieder eine Klassifizierung der Epitheldefekte nach dem Schema von van Bijsterveld vorgenommen.

### 3. Resultate

Die Anwendung von Hyaluronsäure zeigte bei allen Versuchsteilnehmern eine deutliche Verbesserung der subjektiven Symptome. In Einzelfällen verschwanden subjektiv wahrgenommene Irritation sofort nach der Applikation der Hyaluronsäure. Eine Versuchsteilnehmerin zeigte Überempfindlichkeitsreaktionen gegenüber dem verwendeten Präparat. Diese waren aber nicht gegen die Hyaluronsäure selbst sondern gegen das Konservierungsmittel E200 (Sorbinsäure) gerichtet. Bei Verwendung eines konservierungsmittelfreien Hyaluronsäure-Präparates wurden keinerlei Überempfindlichkeitsreaktionen beobachtet. Die Spaltlampenuntersuchung ergab bei der ersten Untersuchung einen mittleren Score von 3,0 bezogen auf alle Versuchsteilnehmer

(n = 112). Wurden lediglich die schwereren Fälle des trockenen Auges mit einem Score von mehr als 3 (n = 38) berücksichtigt, so ergab sich ein mittlerer Score von 5,3. Bei der letzten Nachuntersuchung betrug der mittlere Score für alle Versuchsteilnehmer 1,5 und 2,2 für die Versuchsteilnehmer mit einer schwereren Form des trockenen Auges (Score > 3). Die Unterschiede sind statistisch signifikant (p < 0,001)

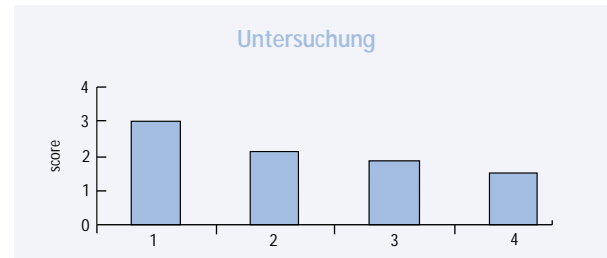


Abb. 3: Lissamin-Score für die Gesamtheit aller untersuchten Augen (n = 112)

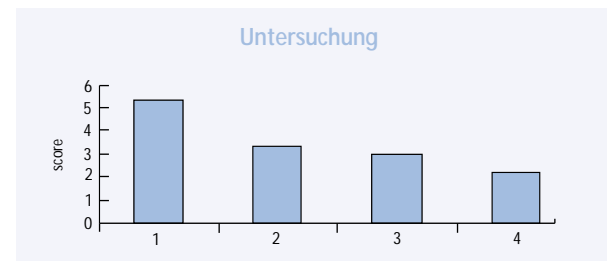


Abb. 4: Lissamin-Score für die Augen mit schwerem trockenem Auge (n = 38, Lissamin-Score > 3)

| Untersuchung | Mittelwert | Standardabweichung |
|--------------|------------|--------------------|
| 1            | 3,0        | 1,8                |
| 2            | 2,2        | 1,4                |
| 3            | 1,8        | 1,3                |
| 4            | 1,5        | 0,9                |

Tabelle 1: Lissamin-Staining Score für alle Augen

| Untersuchung | Mittelwert | Standardabweichung |
|--------------|------------|--------------------|
| 1            | 5,3        | 1,9                |
| 2            | 3,3        | 2,0                |
| 3            | 3,0        | 1,7                |
| 4            | 2,2        | 0,8                |

Tabelle 2: Lissamin-Staining Score für Fälle mit schwereren Formen des trockenen Auges (Score ≥ 4)

Bei den schwereren Fällen des trockenen Auges entsprachen den Verbesserungen der subjektiven Symptome der Versuchsteilnehmer immer auch eine verminderte Zahl von Epitheldefekten, d. h. ein geringerer Score. Bei einer leichten Form des trockenen Auges (Score ≤ 3) entsprach eine verbesserte subjektive Empfindung nicht immer auch einem verminderten Score. In allen Fällen war ein verbessertes Trageverhalten von Kontaktlinsen zu vermerken. In Einzelfälle reichte eine ein- oder zweimalige Applikation von Hyaluronsäure pro Tag aus, um Beschwerden wie Augenbrennen oder gerötete Augen zu beseitigen.

#### 4. Diskussion

Hyaluronsäure führt bei schwereren Formen (Score  $\geq 4$ ) des trockenen Auges zu einer deutlichen Verbesserung der Situation von Hornhaut und Bindehaut. Dies manifestiert sich in einer verminderten Zahl von anfärbbaren Epithelläsionen. Diese Verbesserung ist einerseits auf mechanische Effekte andererseits auf eine Förderung der Wundheilung durch die Hyaluronsäure zurückzuführen.

Als Tränenersatzmittel dämpft Hyaluronsäure die Scherkräfte, die beim Lidschlag vom Oberlid auf das Hornhaut- und Bindehautepithel übertragen werden. Diese Scherkräfte lassen sich in einfacher Näherung abschätzen.

$$F = \eta A v/d,$$

wobei  $\eta$  die Viskosität,  $v$  die Geschwindigkeit des Lidschlags,  $A$  die Oberfläche des Oberlides und  $d$  die Dicke des Tränenfilms bzw. der Hyaluronsäureschicht ist. Da die Hyaluronsäure nur eine relativ geringe Viskosität hat, ist der Einfluss der Viskosität auf die Scherkräfte nur gering. Die Scherkräfte werden umgekehrt proportional durch die Dicke der Flüssigkeitsschicht beeinflusst. Haftet die Hyaluronsäure an der Muzinschicht an, so nimmt die Dicke der Flüssigkeitsschicht zu und die Scherkräfte nehmen entsprechend ab. Daher ist wegen der verminderten Scherkräfte von einer geringeren Verlustrate an Epithelzellen auszugehen (Abb. 5 und 6).

Die beobachtete rasche und zum Teil dramatische Abnahme der Epitheldefekte lässt sich aber nicht allein auf die geringere mechanische Belastung der Epithelien zurückführen. Die Wundheilung wird durch die Hyaluronsäure entscheidend verbessert. Die Hyaluronsäure bildet ein extrazelluläres Netzwerk, in das die Zellen eines Gewebes eingebettet sind. Dadurch ermöglicht sie nicht nur den Austausch von Nährstoffen und Metaboliten, sondern auch die Kommunikation der Zellen untereinander. Die einzelnen Zellen werden durch die Hyaluronsäure isoliert und geschützt. Das von der Hyaluronsäure aufgebaute Netzwerk ermöglicht erst die Wanderung von Zellen, die einen der wichtigsten Wundheilungsmechanismen des Hornhautepithels darstellt. Es ermöglicht auch das Einwandern von Zellen des Immunsystems in die Gewebe. Durch Anlagerung der Hyaluronsäure an CD44-Rezeptoren und umgekehrt, wird erst die Zell-Matrix-Adhäsion und die Zell-Zell-Adhäsion ermöglicht.

Der CD44-Rezeptor stellt eine Familie von Oberflächenmolekülen bestehend aus Proteoglykanen und Glykoproteinen dar, die auf nahezu allen Körperzellen (Ausnahme: Blutplättchen, Hepatozyten, einige Zelllinien der lymphoiden Zellen, Herzmuskelzellen, Epithelzellen der Nierentubuli, Hoden und einige Zelltypen der Haut) anzutreffen sind. In Epithelien dienen die CD44-Rezeptoren auch der Verankerung von Epithelzellen an die Basalmembran. Hyaluronsäure, die sich an die CD44-Rezeptoren anlagert, veranlasst die Zellen zur Wanderung. Ein weiteres besonderes Kennzeichen der Hyaluronsäure ist deren lange Verweildauer an der Augenoberfläche. Diese könnte eine Folge der Wechselwirkung der Hyaluronsäure mit den CD44-Rezeptoren der Epithelzellen sein.

Nach experimentellen Verletzungen des Hornhautepithels konnte innerhalb der ersten Tage ein deutlicher Anstieg der Hyaluronsäurekonzentration und der CD44-Rezeptoren im sich regenerierenden Epithel und dem darunter befindlichen Epithel beobachtet werden. Nach zwei Wochen erreichte die Konzentration der Hyaluronsäure ihren Maximalwert, um dann kontinuierlich wieder abzunehmen. Nach rund 8 Wochen erreichte sie schliesslich ihren Ausgangswert. Durch die

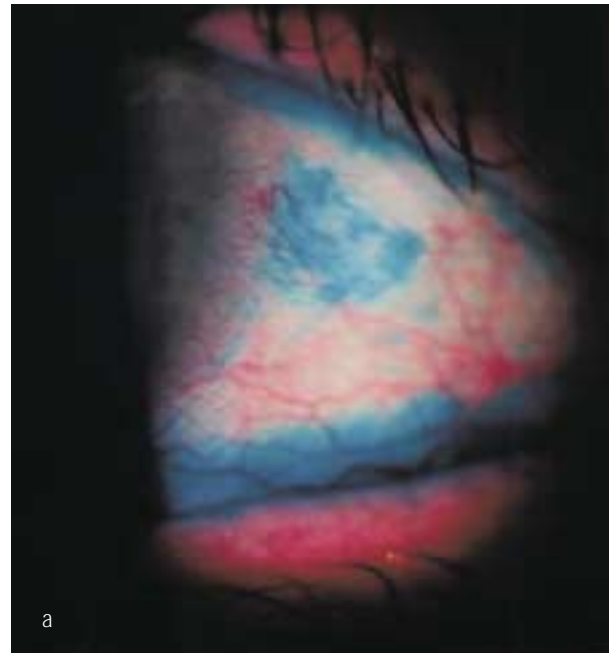


Abb. 5: Epitheldefekte einer 78jährigen Klientin mit trockenem Auge nach Anfärbung mit Lissamingrün. a: zu Beginn der Untersuchungsreihe, b: Zustand der Augenoberfläche nach fünftägiger Anwendung von Hyaluronsäure.

Hyaluronsäure wird die Wanderung von Epithelzellen, die der wichtigste Mechanismus der Wundheilung ist, entscheidend gefördert. Weiterhin wird die Wundheilung des Epithels durch ein beschleunigtes Wachstum der Epithelzellen, das von der an die CD44-Rezeptoren gebundenen Hyaluronsäure stimuliert wird, gefördert (Abb. 7).

Das trockene Auge wird nach neuerer Sichtweise als eine chronische Entzündung interpretiert. Die dauerhafte mechanische Reizung der Hornhaut durch erhöhte Scherkräfte führt zu einer neurogenen Entzündung. Bei Tränenmangel liegt zudem ein hypertoner Tränenfilm vor, in Folge dessen es zu osmotischen Effekten kommt. Die Veränderungen der Epithelzellen, die hieraus resultieren, führen zur Freisetzung des

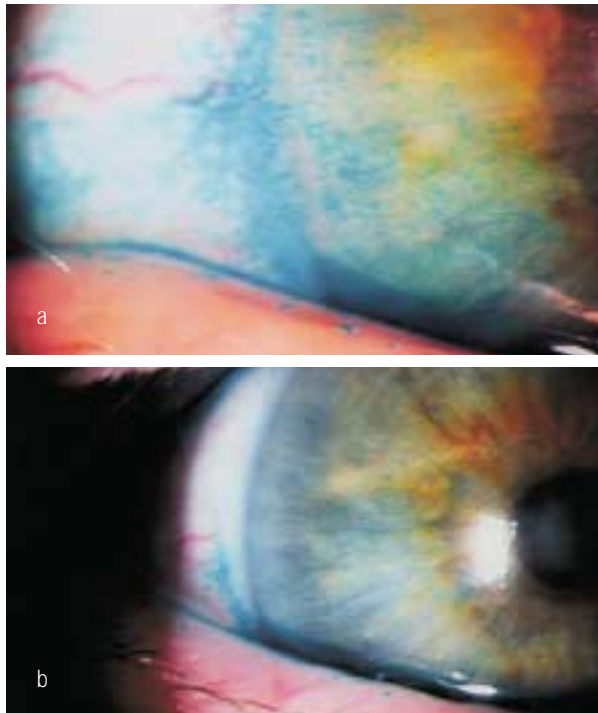


Abb. 6: Epitheldefekte einer 40jährigen Klientin mit trockenem Auge nach Anfärbung mit Lissamingrün. a: zu Beginn der Untersuchungsreihe, b: Zustand der Augenoberfläche nach fünf tägiger Anwendung von Hyaluronsäure.

Entzündungsmediators IL1 $\beta$ . Dieser gilt als ein wirksamer Auslöser der Apoptose des Hornhautepithels. Im Tierexperiment konnte gezeigt werden, dass hochmolekulare Hyaluronsäuren die Bildung der Entzündungsmediatoren IL1 $\beta$ , PGE2 sowie die Angiogenese, d. h. die Neubildung von Blutgefässen unterdrückt. Somit kommt der Hyaluronsäure neben der Förderung der Wundheilung auch eine entzündungshemmende Wirkung sowie die Fähigkeit zur Unterdrückung der Apoptose zu. Hyaluronsäure ist nicht an Proteine gebunden, weshalb von ihr kein allergenes Potenzial ausgehen sollte. Wird die Hyaluronsäure biotechnologisch mittels Mikroorganismen gewonnen, so kann das allergene Risiko als sehr gering angesehen werden. Ein grosser Teil der therapeutisch eingesetzten Hyaluronsäure wird immer noch aus den Kämmen von Hähnen gewonnen. Hier müssen die Proteine erst aufwändig entfernt werden. Verunreinigungen der Hyaluronsäure könnten eventuell als Allergene in Erscheinung treten. Ein grösseres allergenes Potenzial als die Hyaluronsäure selbst stellen die verwendeten weiteren Inhaltsstoffe der Präparate, allen voran die Konservierungsstoffe, dar.

## 5. Folgerungen

Hyaluronsäure ist hervorragend geeignet für die Behandlung schwerer Formen des trockenen Auges. Dies ist einerseits auf die viskoelastischen Eigenschaften der Hyaluronsäure, die zu einer Verminderung der Scherkräfte zwischen Oberlid und Augenoberfläche führen, zurückzuführen. Andererseits beschleunigt Hyaluronsäure aktiv durch Wechselwirkung mit CD44-Rezeptoren auf den Epithelzellen die Wundheilung und Regeneration des Hornhautepithels. Ein grosser Vorzug der Hyaluronsäure ist die lange Verweildauer am Auge, die ebenfalls auf die Wechselwirkung mit CD44-Rezeptoren und auf die mucoadhäsiven Eigenschaften der Hyaluronsäure zurückzuführen sind. Der Tragekomfort von Kontaktlinsen wird durch die Hyaluronsäure deutlich verbessert.

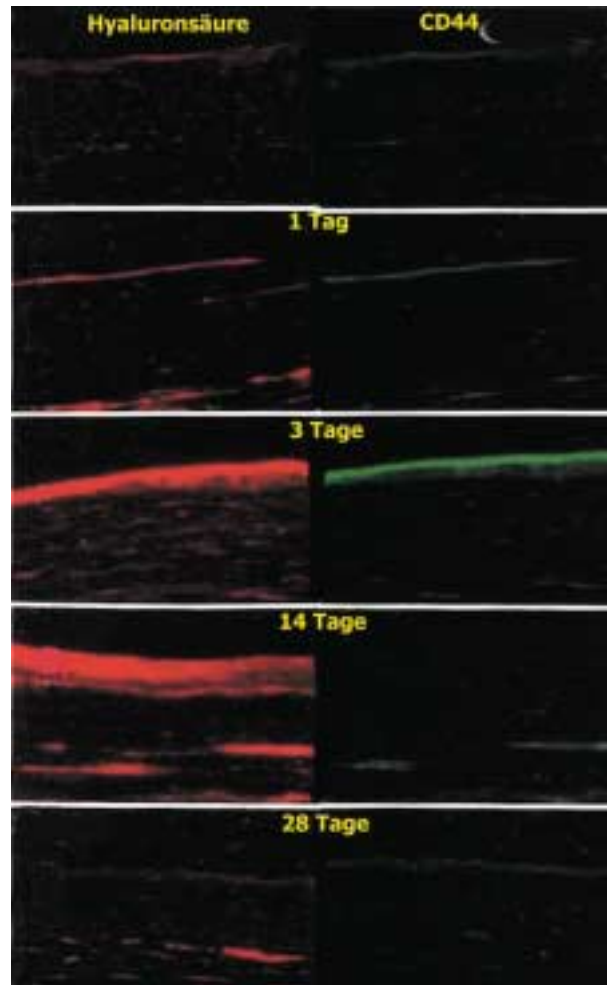


Abb. 7: Auftreten von Hyaluronsäure und CD44-Rezeptor nach einer experimentellen Verletzung der Hornhaut beim Kaninchen (nach [www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluron](http://www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluron))



Comfort-Lösung  
drop & see  
25 ml

Mit einer speziellen Zusammensetzung unterstützt die Lösung «drop & see» die optimale Kompatibilität zwischen Contactlinse, Tränenfilm und Hornhaut.

Im Unterschied zu herkömmlichen Lösungen fördert «drop & see» eine Langzeitstabilität der Augenoberfläche. So wird belastenden Einflüssen der Umwelt mit Ermüdung und Reizung des Auges entgegengewirkt.

Die Lösung «drop & see» ist bei normalen und empfindlichen Augen, besonders bei Contactlinsen-Trägern, geeignet.