

# Ein Glaskörperersatz aus dem Biopolymer Hyaluronsäure

Charlotte Frank<sup>1</sup>, Martin S. Spitzer<sup>1</sup> MD, Sigrid Henke-Fahle<sup>1</sup> MD, Efdal Yoeruek<sup>1</sup> MD, Karl U. Bartz-Schmidt<sup>1</sup> MD, Peter Szurman<sup>1</sup> MD

<sup>1</sup>Department für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Tübingen, 72076 Tübingen, Schleichstr. 12-16

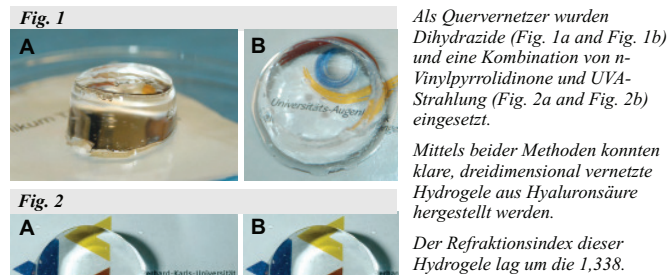
## Hintergrund:

Ziel der Studie war die Erschaffung eines künstlichen Glaskörperersatzes mittels Quervernetzung von Hyaluronsäure. Dieser sollte klar, biokompatibel und dreidimensional sein, ohne die optische Refraktion zu ändern.

## Methoden:

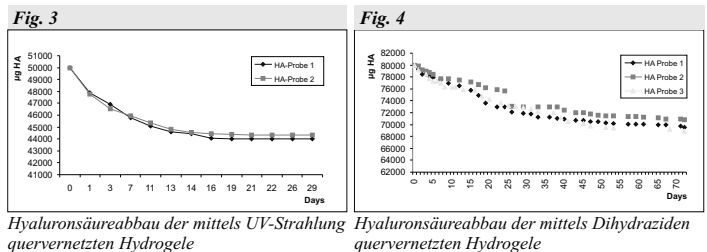
Mittels zweier Methoden wurden dreidimensionale Hydrogele aus Hyaluronsäure hergestellt. Um die Geschwindigkeit des Hydrogelabbaus zu bestimmen, wurde mit Hilfe der Carabzomethode die abgebaute Hyaluronsäure gemessen. Desweiteren wurden durch verschiedene Zellkulturversuche wie dem AlamarBlue-Assay und dem Life/Dead-Fluoreszenztest der Einfluss der Hydrogele auf retinale Pigmentepithelzellen (RPE-Zellen) getestet.

### [1] Quervernetzung von Hyaluronsäure



### [2] Abbau der Hydrogele

Die photometrische Messung zeigte für beide Hydrogele eine ähnliche Abbaukurve. Während des ersten Monats wurden ca. 10 % der quervernetzten Hyaluronsäure abgebaut. Im Verlauf verringerte sich die Abbaugeschwindigkeit, so dass von einer Haltbarkeit über mehrere Monate auszugehen ist. Nach diesen Messungen hatten die Hydrogele die gleichen Eigenschaften wie davor. Sie blieben klar und behielten ihre dreidimensionale Form.

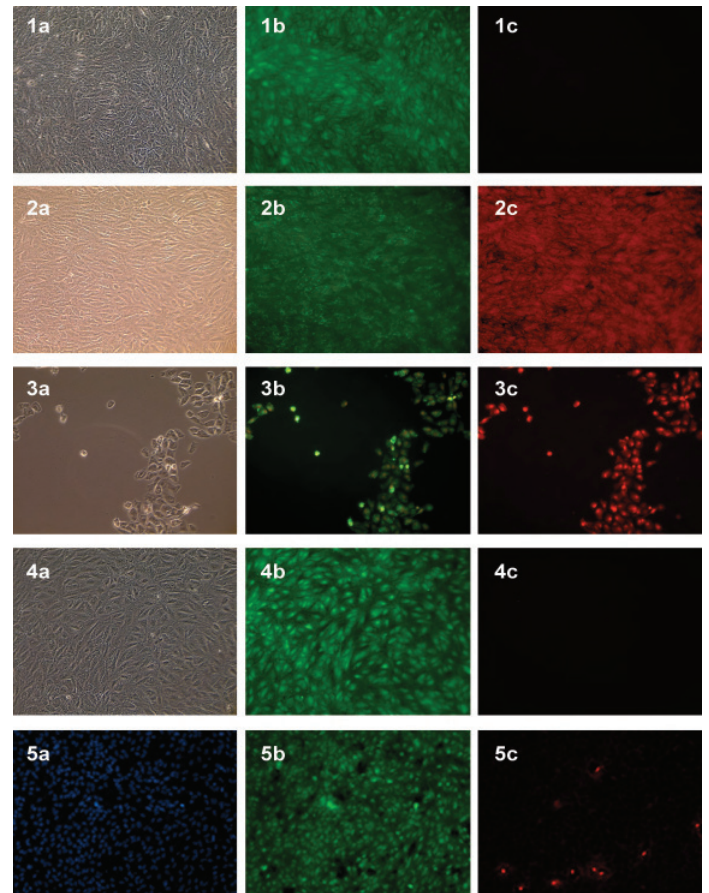


## Zusammenfassung:

Die quervernetzten Hyaluronsäuregele waren klar, dreidimensional und zeigten in vitro einen langsamen Abbau über mehrere Monate.

In den Zellversuchen fand sich gegenüber RPE-Zellen bei den mittels UV-Strahlung quervernetzten Hydrogelen eine bessere Biokompatibilität als bei den mittels Dihydraziden quervernetzten Hyaluronsäuregelen.

### [3] Life/Dead-Cytotoxicity-Test



Nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden wurden mittels Fluoreszenzfärbung die lebenden und die toten RPE-Zellen dargestellt. Mittels Calcein AM konnten die lebenden Zellen (b) und mittels EthD-1 die toten Zellen (c) angefärbt werden. Um die Zellstrukturen abgrenzen zu können, erfolgte eine zusätzliche Anfärbung der Zellkerne mit 4'6'-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (a). Im Vergleich zu den Kontrollgruppen (1 u. 2) zeigten sich unter Inkubation mit den quervernetzten Hyaluronsäuregelen zunächst deutliche rote Fluoreszenzen, so dass hier von toten Zellen auszugehen war (3). Nach einer Dialyse von 24-48 Stunden gegenüber PBS fanden sich unter Inkubation mit mittels UV-Strahlung quervernetzter Hyaluronsäure (4) keine Unterschiede zur Kontrollgruppe mit den lebenden RPE-Zellen (1). Unter den RPE-Zellen nach Inkubation mit mittels Dihydraziden quervernetzter Hyaluronsäure fanden sich dagegen mehrere rote Fluoreszenzen mit teils aufgebrochenen Zellrasen (5).

### [4] AlamarBlue-Cytotoxicity/Proliferation-Assay

Um die Zytotoxizität zu bestimmen, wurden die RPE-Zellen über 24 und 72 Stunden mit den quervernetzten Hyaluronsäuregelen inkubiert. Die mitochondriale Aktivitäten unter Inkubation mit mittel UV-Strahlung quervernetzter Hyaluronsäure waren im Vergleich zur Kontrollgruppe statistisch nicht signifikant ( $p < 0,05$ ). Die mitochondrialen Aktivitäten unter Inkubation mit mittels Dihydraziden quervernetzter Hyaluronsäure waren statistisch höher als die der Kontrollgruppe ( $p < 0,05$ ).

