

Blutderivate bei Arthrose

Durch die Einführung von ambulanten Verfahren – basierend auf Zentrifugation – haben Blutprodukte in der orthopädischen Praxis größere Aufmerksamkeit erlangt. Dadurch wurden Point of Care-Behandlungen mit autologen Blutbestandteilen möglich. Besonders Thrombozytenkonzentrate wie PRP (= Platelet Rich Plasma) stehen im Fokus für Anwendungen am Bewegungsapparat.

Stefan Nehrer et al.*

Einleitung

Blut hat in der modernen Medizin durch den Einsatz von Fibrin als Hämostyptikum und Klebesubstanz um 1905 eine erste spezifische Anwendung erfahren. Blutderivate wie „Platelet Rich Plasma“ (PRP) wurden im Zusammenhang mit Gerinnungsexperimenten von Kingsley 1954 geprägt; Marx berichtete über PRP als regenerative Therapie bei der Knochenbildung. Daraus entstanden verschiedene Anwendungen von Fibrin und Thrombozytenkonzentraten als Gel, Membran oder Lysaten vor allem bei Wundheilungsstörungen.

Die breite klinische Einführung von PRP erfolgte in den späten 1990er Jahren bei klinischen Interventionen in der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie. Im Jahr 2010 gewann die Anwendung in der Sportmedizin zur Heilung von Sportverletzungen an Popularität – unterstützt durch einen Bericht der New York Times über die erfolgreiche Anwendung bei einem Footballspieler der Super Bowl.

PRP ist ein Produkt, das konzentriert Blutplättchen in einer Plasmafraktion enthält (Abb. 1). Es wird aus menschlichem Vollblut durch einen oder zwei Zentrifugationsschritte gewonnen, wobei zelluläre von löslichen Bestandteilen des Blutes getrennt werden. Die Entnahme von Vollblut für die PRP-Gewinnung erfordert ein Antikoagulans – meist Citrat. Alternative Antikoagulantien sind Citratdextrose oder Heparin. Diese tragen dazu bei, dass die Trennung der Blutplättchen erleichtert wird, ohne dabei Wachstumsfaktoren vor der Anwendung am Patienten aus Alpha-Granula freizusetzen. Einige Systeme enthalten kein Antikoagulans, das zellfreie Plasma jedoch die Gerinnungsfaktoren, die ohne Zugabe von Antikoagulantien eine Koagulation des Präparats bewirken, wenn dieses verabreicht wird.

Andere Systeme involvieren einen absichtlichen Gerinnungsschritt, um autologes konditioniertes Serum (ACS) oder Serum von plättchenreichem Fibrin (SPRF) zu erhalten, welches frei von Gerinnungsfaktoren ist, dafür angereichert mit Wachstumsfaktoren und anti-inflammatorisch wirksamen Zytokinen wie Interleukin 1-Rezeptorantagonist, die im Zuge der Plättchenaktivierung freigesetzt werden. Nach der Zentrifugation mit geringer Geschwindigkeit findet sich eine unscharfe Übergangszone (Buffy Coat) zwischen zellfreier flüssiger Phase und der unteren Erythrozyten-Schicht. Im Buffy Coat akkumulieren auch Leukozyten. Verwendet man den Buffy Coat zusammen mit der flüssigen Phase für die Applikation, macht dies einen großen Unterschied hinsichtlich der Konzentration von Zellanteilen und Proteinen wie Wachstumsfaktoren und Zytokinen. Biologische Effekte, die von diesen Faktoren angestoßen werden, umfassen Förderung von Zellproliferation von Fibroblasten und Chondrozyten, Hemmung der Proliferation von Makrophagen und Lymphozyten, Hemmung der Polarisation von M1-Makrophagen, Regulation von Fibrose, Induktion von Angiogenese und Wundheilung sowie Erhöhung der Produktion von extrazellulärer Matrix.

Die Thrombozytenkonzentration im Vollblut variiert nicht nur von Spender zu Spender, auch die Art des verwendeten Antikoagulans, der Aufbau des Präparationssystems sowie Dauer und Stärke der Zentrifugation können die Konzentration an Blutplättchen im Vergleich zur Ausgangskonzentration in Vollblut und deren Qualität im finalen PRP-Präparat beeinflussen. Durch die verschiedenen Herstellungsverfahren ist die Konzentration von Thrombozyten im PRP zwei bis sieben Mal höher als im Vollblut. Zusätzlich zur Donor-Variabilität hinsichtlich Leukozytenkonzentrationen und Aktivierungszuständen ergeben sich durch die unterschiedlichen Herstellungsverfahren unterschiedliche Konzentrationen an Leukozyten in PRPs.

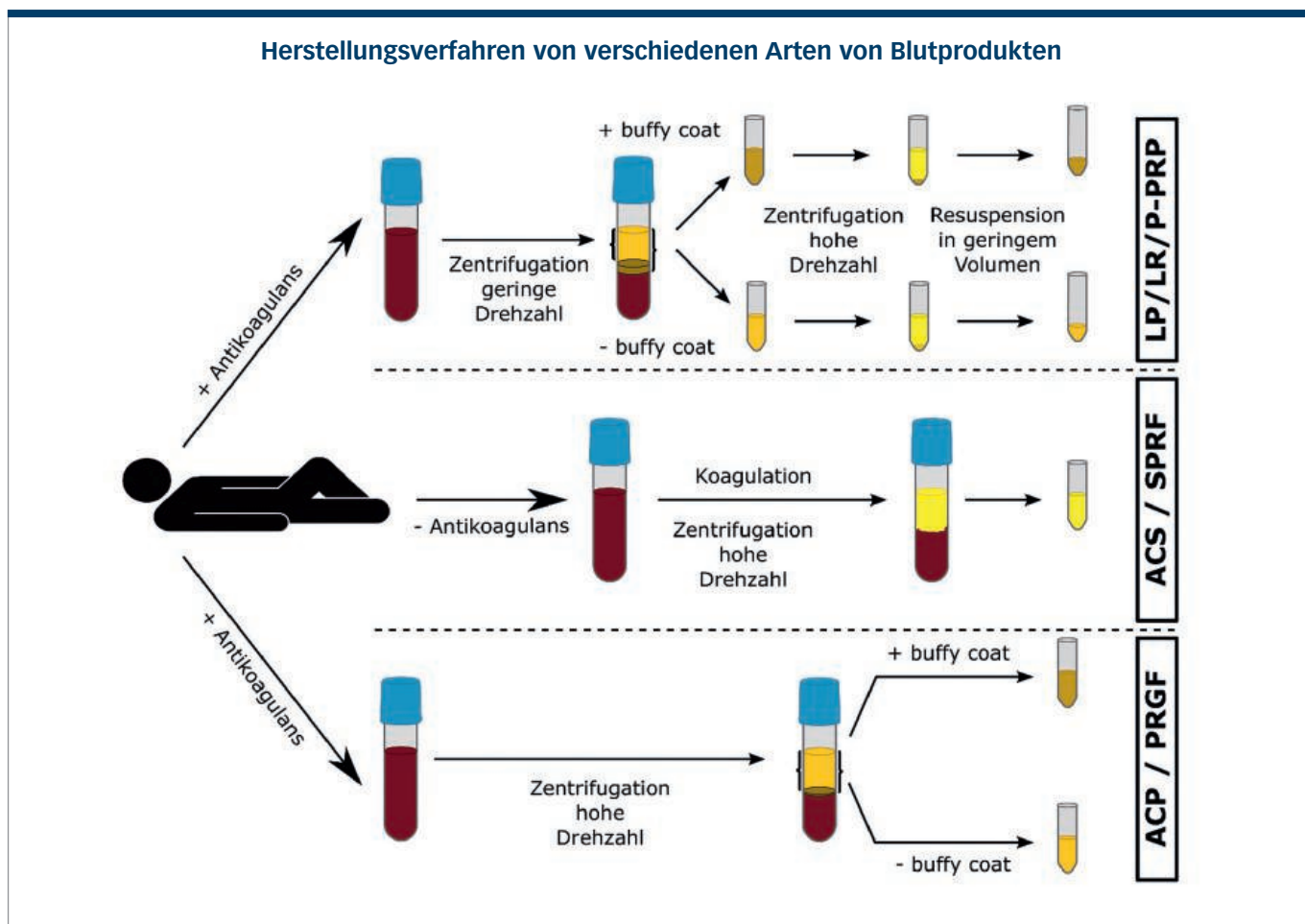


Abb. 1: Leukocyte-poor PRP (LP-PRP), leukocyte-rich PRP (LR-PRP), pures PRP (P-PRP), autologes conditioniertes serum (ACS), serum of platelet-rich fibrin (SPRF), autologes konditioniertes Plasma (ACP), plasma rich in growth factors (PRGF)

© A. Otahal, Universität für Weiterbildung Krems

Bei der Herstellung von PRP werden meist geschlossene Systeme verwendet, was die Sicherheit im Hinblick auf mögliche Infektionen deutlich erhöht. Mit neueren präparativen Zentrifugen können verschiedene PRP-Variationen in einer Zentrifuge hergestellt werden.

Extrazelluläre Vesikel

Bisher wenig beachtete Bestandteile von Blutderivaten, die extrazellulären Vesikel (EV), beforschen die Autoren im Hinblick auf neuartige Wirkmechanismen im Kontext einer PRP-Behandlung. Bei extrazellulären Vesikeln handelt es sich um biogene Membran-umschlossene Nanopartikel mit einem Größenspektrum von etwa 30-1.000 Nanometer. Der Begriff extrazelluläre Vesikel umfasst verschiedene Kategorien – abhängig vom Biosyntheseweg in der Zelle. Exosomen (kleine extrazelluläre Vesikel mit einer Größe von etwa 30-150 Nanometer) entstehen durch die intraluminale Abschnürung in intrazellulären Kompartimenten und werden nach der Fusion der entstehenden multivesikulären Kompartimente mit der Plasmamembran

freigesetzt. Mikrovesikel mit einer Größe von 100-1.000 Nanometer entstehen durch Abschnürung an der Plasmamembran. Apoptotische Zellen können auch Partikel in diesem Größenbereich oder größer freisetzen, die als apoptotische Körperchen bezeichnet werden. Die verschiedenen Typen können derzeit nach der Freisetzung anhand von biochemischen Markern nur schwer unterschieden werden.

Man nimmt an, dass alle Zelltypen extrazelluläre Vesikel freisetzen können. Daher sind extrazelluläre Vesikel in verschiedenen Körperflüssigkeiten wie Blut und Blutderivaten wie PRP vorhanden. Ähnlich wie Wachstumsfaktoren werden extrazelluläre Vesikel von Thrombozyten freigesetzt, wenn PRP aktiviert wird. Diese Partikel dienen als Boten zwischen verschiedenen Zelltypen und werden von Zielzellen entweder durch Membranfusion oder Endozytose aufgenommen. Die Entdeckung von mRNAs und miRNAs als Cargomoleküle, die neben Lipiden und Proteinen von extrazellulären Vesikeln transportiert werden, hat einerseits die Vorstellung von extrazellulären Vesikeln als interzelluläre Signalüberträger gefördert und andererseits ein neues »

- » Verständnis für die Komplexität der Wirkmechanismen von PRP und Blutderivaten in der Orthopädie eröffnet.

Ein therapeutischer Effekt von miRNAs wird dadurch erreicht, dass eine bestimmte miRNA an eine spezifische Stelle einer mRNA sequenzabhängig bindet. In Anwesenheit eines Enzymkomplexes wird in der Folge die Proteintranslation von dieser mRNA entweder unterbunden oder die betreffende mRNA komplett abgebaut. Als Resultat dieses posttranskriptionalen Weges der Regulation von Genexpression können zum Beispiel inflammatorische Prozesse gestoppt oder regenerative Prozesse angestoßen werden. Das Repertoire von extrazellulären Vesikel-assoziierten miRNAs kann in Zielzellen somit eine Änderung der Genexpression und Proteintranslation steuern und so langfristig inflammatorische, regenerative sowie immunmodulatorische Prozesse beeinflussen. Es könnte eine Erklärung dafür sein, warum Blutderivate über Wachstumsfaktoren und Zytokine sofort Wirkung haben, welche aber aufgrund der Instabilität der Proteine und damit verbundenen kurzen biologischen Halbwertszeit vor Ort nur sehr kurzfristig sein können. Die miRNA von extrazellulären Vesikeln verändert aber nachhaltig das Zellverhalten und führt zu langfristigen Effekten. In experimentellen Anwendungen von extrazellulären Vesikeln aus PRP konnten solche nachhaltige antiinflammatorische und regenerative Effekte gezeigt werden. Dabei beeinflussen sie unter anderem den pro-inflammatorischen NFκB-Signalweg. Die Chondrogenese wird durch den TGFβ-Signalweg positiv beeinflusst, während eine Verminderung der Aktivität von TGFβ im Kontext einer Entzündung von synovialen Gewebe den komplexen Krankheitsprozess der Osteoarthritis wieder ins Gleichgewicht bringen könnte. Die Regulation von mehreren Akteuren im TGFβ-Signalweg durch miRNAs könnte dabei einen synergistischen Effekt erzeugen, der mehr als die Summe der Einzelteile ist.

Extrazelluläre Vesikel transportieren auch an der Oberfläche Signalmoleküle in der sogenannten Proteinkorona, wo sich Wachstumsfaktoren befinden können. Die Beladung von gereinigten extrazellulären Vesikeln mit Wachstumsfaktoren wie VEGF, IGF und EGF zur Rekonstituierung der Proteinkorona steigerte die regenerativen Eigenschaften, während gereinigte extrazelluläre Vesikel allein weniger funktional waren. Dadurch können extrazelluläre Vesikel einerseits kurzfristige Effekte durch Wachs-

tumsfaktoren, andererseits auch langfristige Effekte durch nachhaltige Regulation von Genexpression erzielen, was den Kreis zu bisherigen Erkenntnissen zur Wirkungsweise von Blutprodukten schließt. Derzeit werden verschiedene Herstellungstechnologien im Hinblick darauf untersucht, inwiefern eine Standardisierung der Wirksamkeit der Blut-Produkte möglich ist.

Einflussparameter auf die Qualität

PRP ist ein weit verbreiteter Begriff, der in der Literatur vielfältig verwendet wird. Allerdings verwenden kommerzielle Systeme oft unterschiedliche Terminologien wie autologes konditioniertes Plasma, plättchenangereichertes Plasma, plättchenreiches Konzentrat, Plättchenlysat und andere. Einflussparameter auf die Qualität von PRP bei der Herstellung sind die Menge des entnommenen Vollblutes, die Geschwindigkeit und Dauer der Zentrifugation, die Zugabe eines Antikoagulans oder Aktivators sowie die daraus resultierende Konzentration von Leukozyten im Endprodukt, welche die Qualität und Zusammensetzung beeinflussen können. Die Qualität und Funktionalität von extrazellulären Vesikeln leisten ebenfalls einen Beitrag zur erwartbaren Wirksamkeit, was im Kontext zu freigesetzten Proteinen aus den Granula der Thrombozyten zu sehen ist.

Bei der Applikation von PRP wird oft mittels Thrombin oder CaCl₂ voraktiviert. Durch die Auslösung der Hämostase kommt es zur Koagulation, Fibrinpolymerisation und Gerinnselbildung. Die Aktivierung von Plättchen wird oft mit einem Aufbrechen der Blutplättchen gleichgesetzt, was aber irreführend ist. Im Zuge der Aktivierung kommt es lediglich zur Freisetzung von Wachstumsfaktoren aus Blutplättchen-internen Reservoirs und nicht zur Disruption von Blutplättchen. Weiters löst Koagulation die Freisetzung von extrazellulären Vesikeln aus, was die proportionale Zusammensetzung des Zellursprungs der Populationen von extrazellulären Vesikeln ändert. Obwohl der Großteil von extrazellulären Vesikeln in anti-koagulierten und koagulierten Blutprodukten weiterhin von Thrombozyten stammt, ist zu erwarten, dass sich das funktionelle Repertoire der enthaltenen Signalmoleküle verändert.

Durch die Beurteilung der Wirksamkeit könnten neue Aspekte für die differenzierte Anwendung abgeleitet werden. So könnten unterschiedliche PRPs zum Einsatz kommen, die bei aktivierten

www.aerztezeitung.at

Arthrosen mit Erguss und sogenannten trockenen Arthrosen ohne synovialen Reizzustand unterschiedliche therapeutische Wirksamkeiten aufweisen.

Die Studienergebnisse zeigen nicht nur hinsichtlich der verschiedenen Technologien bei der Herstellung von PRP und Blutderivaten Heterogenität, sondern auch bei der Stratifikation von Menschen, die an Arthrose leiden. Der Arthrosegrad ist hier nur eine mögliche Differenzierung neben vielen anderen Faktoren wie Alter, BMI, Lebensgewohnheiten, Ernährung, Sport, Belastungs- und Schmerzanamnese sowie Krankheitsdauer. Weiters besteht ein Mangel an einheitlichen Behandlungsprotokollen in Bezug auf die Verabreichung, die Dosierung und den Beobachtungszeitraum. Diese Faktoren lassen viele Fragen bei der Beurteilung der Studienergebnisse unbeantwortet.

Da man zur Zeit bei der Arthrose von zumindest vier Aktivierungsmechanismen der inflammatorischen-degenerativen Kaskaden ausgeht, müssten Synovia-Analysen erfolgen, um den Arthrose-Typ festzulegen. Somit gibt es gemischte Kohorten, wo Effekte nicht eindeutig zugeordnet werden können.

Die Komposition von antiinflammatorischen oder regenerativen Faktoren in PRP wird durch die Herstellung maßgeblich beeinflusst und bewirkt komplexe Reaktionen. Sieht man aber auf die komplexen Zusammenhänge zwischen inflammatorischen, degenerativen katabolen Prozesse, wie sie bei Osteoarthrose vorkommen, erscheint es sinnvoll, nicht mit Monosubstanzen zu arbeiten, sondern mit reaktiven Therapiekonzepten basierend auf dynamischen Präparaten wie Blutderivaten eine Gelenkshomöostase herzustellen. Da der phasenhafte Verlauf der Arthrose solch passagere Aktivierungszustände kennt, die auch oft ohne Therapie wieder symptomarm werden, erscheint es ein therapeutisches Ziel, diesen Mechanismus zu unterstützen. Insgesamt sind in fast jeder Studie 20 bis 30 Prozent der Patienten Non-Responder. Bei rund 30 Prozent der Betroffenen kommt es im Beobachtungszeitraum aufgrund des phasenhaften Verlaufs der Arthrose zu einer Verbesserung oder Verschlechterung.

Die inkonsistente Effizienz in der Behandlung bei degenerativen Gelenkserkrankungen könnte zu Rückschlüssen führen in Abhängigkeit zu unterschiedlichen Präparationsverfahren und zu Erkenntnissen beitragen, mit denen erklärbar wird, warum solche regenerativen Verfahren bei Non-Respondern kaum bis gar nicht wirken.

PRP für intraartikuläre Anwendungen

Die Variabilität der Herstellung, Zusammensetzung und Applikation von PRP macht die Bewertung der klinischen Evidenz schwierig. In grundlagenwissenschaftlichen Studien konnten günstige krankheitsmodifizierende Wirkungen von PRP in Arthrosemodellen am Tier und auch erste Dosis-Wirkungs-Beziehungen zeigen. Es gibt mehrere aktuelle Level-I- und Level-II-Studien, die den Einsatz von PRP bei Knie-Arthrose (KOA) unterstützen, aber auch einige Arbeiten mit konträren Aussagen.

Klinisch hat sich PRP in den meisten Studien im Vergleich zu Hyaluronsäure zumindest als gleichwertig, wenn nicht überlegen gezeigt. Die Wirksamkeit von PRP nimmt dabei nach mehreren Injektionen zu. Außerdem konnte in hochwertigen systematischen Übersichten festgestellt werden, dass bei Patienten mit Knie-Arthrose, die mit PRP behandelt werden, im Vergleich zur Kontrollgruppe mit Hyaluronsäure bessere klinische Ergebnisse zu erwarten sind. Bei der nicht-chirurgischen Behandlung von KOA konnte die intraartikuläre Injektion von PRP im Vergleich zu Hyaluronsäure die Frühschmerzen der Patienten deutlich verringern und die Funktion verbessern. PRP war bei der Behandlung der KOA wirksamer als Hyaluronsäure, die Sicherheit beider Behandlungsoptionen war vergleichbar. Eine intraartikuläre Injektion zielt nicht nur auf den Knorpel ab; PRP kann die gesamte Gelenkumgebung beeinflussen. PRP hat »

- » das Potential, die Symptome ab zwei Monaten bis zu zwölf Monaten zu verbessern und zeigt bessere Ergebnisse hinsichtlich Schmerzen, Steifheit und Funktion drei, sechs und neun Monate nach der Intervention. Nach sechs Monaten konnten mit PRP Behandelte mehr Sport ausüben als diejenigen, die mit Kortikosteroiden behandelt wurden.

In drei aktuellen Random Controlled Trials wird die Tatsache hervorgehoben, dass die meisten Studien zwar die Überlegenheit der PRP-Behandlung gegenüber anderen injizierbaren Wirkstoffen einschließlich Placebo gezeigt haben, dass aber nicht alle Studien konsistente Ergebnisse gezeigt haben. Das könnte durch die immer noch bestehende Variabilität der Studienmethodik sowie der Produkt- und Protokollvariabilität erklärt werden und ist ein Thema für weitere Untersuchungen und Forschungen. In der jüngst publizierten RESTORE-Studie konnte etwa keine Überlegenheit der PRP-Behandlung gegenüber Placebo festgestellt werden, während zwei andere neuere RCTs erneut die Überlegenheit der PRP-Behandlung gegenüber Placebo gezeigt haben, wobei es sich bei der einen um eine vierarmige Studie handelte, in der ebenfalls eine vs. drei Injektionen von sowohl Placebo (Kochsalzlösung) als auch PRP verglichen wurden.

In der zuletzt veröffentlichten Metaanalyse über PRP in 34 Random Controlled Trials mit insgesamt 1.403 PRP Behandelten versus 1.426 Kontroll-Kniegelenken schneidet PRP im Vergleich zu Placebo im WOMAC-Score besser ab; ebenso auch gegenüber anderen Injektionsmethoden mit Hyaluronsäure und Kortison, wobei aber nicht in allen Parametern eine relevante therapeutische Wirksamkeit erreicht wurde (Minimal clinical relevance). Das heißt, die angestrebte Zielgröße in der Wirksamkeit von klinischer Verbesserung wird nicht immer erreicht. Berücksichtigt man jedoch die Nebenwirkungen

einer medikamentösen Therapie mit NSAR oder einer reinen Schmerztherapie, ist die Anwendung von Blutderivaten deutlich positiver zu beurteilen.

Filardo et al. konnten in seiner Metaanalyse zeigen, dass es relevante Effektgrößen in kurzfristigen Studien gibt, aber noch signifikant bessere in Langzeitstudien gegenüber Placebo, wobei Wirksamkeiten über ein Jahr gezeigt werden konnten. Krankheitsmodifizierende Wirkung mit einer Verbesserung des Arthrose-Grades gibt es in keiner der Studien, nur die Verlangsamung des Verlaufes und Reduzierung der Symptomatik ist offenbar möglich. Das Nebenwirkungsprofil der Anwendung ist sehr gering und beinhaltet fast ausschließlich die mit der Infiltration verbundene Infektionsgefahr, die aber bei Verwendung von geschlossenen Herstellungstechnologien und sterilem Applikationsverfahren sehr gering ist.

Aktuell nicht abschließend beantwortet werden kann die Frage, ob leukozytenreiches (LR) oder leukozytenarmes (LP) PRP wirksamer bei Gonarthrose ist. Für beide gibt es positive klinische Ergebnisse, wobei die Wirkmechanismen etwas unterschiedlich sind. Künftig ist hier mehr Forschung erforderlich, bei welchem Gelenkzustand wie akuter inflammatorischer Zustand, ausgebrannte Gonarthrose oder reizlose Arthrose welche Formulierung wirkungsvoller ist.

Aufgrund der teilweise widersprüchlichen Studienlage hat man sich im Rahmen der evidenzbasierten Medizin dazu entschieden, unter Berücksichtigung der besten verfügbaren Evidenz, der besten verfügbaren Therapie und der Bedürfnisse des Patienten einen Expertenkonsens der ESSKA zu erarbeiten. Dieser Konsens wurde im Rahmen eines aufwendigen Delphi-Prozesses erzielt und unter dem Namen ORBIT (Orthobiologic Initiative) veröffentlicht. In diesem Dokument werden Fragen beantwortet

und Empfehlungen gegeben, wobei der Übereinstimmungsprozentsatz der Experten (0-9) und die wissenschaftliche Absicherung (A-D) angegeben werden. Im Folgenden sind nur einige Beispiele für die gestellten Fragen aufgeführt:

- Unterstützt die derzeitige Evidenz die Anwendung von PRP bei Kniearthrose?
Die klinische Evidenz unterstützt die Anwendung von PRP bei Kniearthrose, da sowohl in Vergleich mit Placebo als auch anderen Therapieformen (Hyaluronat, Cortison) bessere Ergebnisse erzielt werden konnten, was auch durch präklinische Studien unterstützt wird.
Wiss. Grad (WG): A, Übereinstimmung (Ü): 8
- Für welchen Grad von Arthrose eignet sich PRP?
Die beste klinische Wirksamkeit wurde für milde und moderate Arthroseformen gefunden und sollte für diese indiziert werden (Kellgren Lawrence <3)
WG: A, Ü: 8,1
- In welcher Altersgruppe soll PRP verwendet werden?
Die Mehrzahl der Studien inkludiert Patienten zwischen 55 und 65 Jahren, wobei kein generelles Statement, sondern die Berücksichtigung des biologischen Alters wichtig erscheint.
WG: D, Ü: 8,4s
- Ist die Anwendung bei schweren Arthrosegraden gerechtfertigt?
Im Einzelfall kann PRP auch bei schweren Arthrosen angewendet werden, wenn zum Beispiel eine Kontraindikation gegen den Gelenkersatz besteht.
WG: C Ü: 8,1

Conclusio

PRP bietet Patienten in der frühen Phase einer degenerativen Knieveränderung (Kellgren Lawrence 1-3) eine wirksame Schmerzlinde- rung und sollte bei Patienten mit einer moderaten Knie-Osteo- arthrose in Betracht gezogen werden. Allerdings ist die Anwendung

bei Patienten mit fortgeschrittener Osteoarthrose (Kellgren Law- rence 4) nicht empfehlenswert. Leukozytenarmes PRP hat sich auf- grund von klinischen Studien als bessere Methode für die Präpa- ration von PRP für Osteoarthritis erwiesen. Künftige Forschungen sollten sich auf die standardisierte Herstellung von Blutderivaten konzentrieren und differenzierte Anwendungsprofile entwickeln. Es ist wichtig, die internationalen Behandlungsrichtlinien zu be- achten, die Injektionstherapien nicht als Ersttherapie empfehlen. Die konservative Therapie – einschließlich Lebensstiländerungen und Ernährungsumstellung – steht im Vordergrund, um Personen, die an Arthrose leiden, langfristig zu behandeln.

Fazit für die Praxis

- Grundlagenwissenschaftliche Arbeiten zeigen positive Effekte von PRP auf Knorpelgewebe und bei Gonarthrose.
- Geschlossene Herstellungssysteme sind zu bevorzugen.
- Klinische Daten zeigen bei Gonarthrose eine mindestens gleichwertige bis überlegene Wirkung von PRP verglichen mit Hyaluronsäure.
- Nach wie vor erschweren die Variabilität der Herstellung, Zusammensetzung und Applikation von PRP die klinische Evaluierung. ☹

Literatur bei den Verfassern

**) Univ. Prof. Dr. Stefan Nehrer, Dr. Alexander Otahal, Ass. Prof. Dr. Andrea De Luna; alle: Universität für Weiterbildung Krems, Zentrum für Regenerative Medizin, Dr.-Karl-Dorrek-Straße 30, 3500 Krems; Korrespondenzadresse: stefan.nehrer@donau-uni.ac.at*

Dieser Artikel basiert auf einer Zusammenarbeit mit der Donau-Universität Krems.