

El ácido hialurónico y sus aplicaciones oftalmológicas

Javier Adrián Calles^{1, 2}, Ignacio Tártara³, Santiago Daniel Palma³ y Enrique Marcelo Vallés¹

¹Planta Piloto de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Sur-CONICET, Bahía Blanca

²Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur.

³Unidad de Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología Farmacéutica, Universidad Nacional de Córdoba.

Resumen

El ácido hialurónico es un biopolímero de origen natural que tiene importantes funciones biológicas en bacterias y animales superiores, incluyendo a los seres humanos. Fue descubierto en 1934 por Karl Meyer y John Palmer en el humor vítreo de ojos bovinos. El ácido hialurónico se encuentra en la mayoría de los tejidos conectivos y está particularmente concentrado en el líquido sinovial, el fluido vítreo del ojo, cordón umbilical y crestas de gallo. En el ámbito de la oftalmología el ácido hialurónico ha jugado un importante papel desde sus comienzos y hoy en día sigue demostrando su utilidad en diferentes campos de la ciencia de la visión.

Palabras clave: ácido hialurónico, enfermedades oculares, ojo seco.

Hyaluronic acid and its ophthalmic applications

Abstract

Hyaluronic acid is a naturally occurring biopolymer, which has important biological functions in bacteria and higher animals, including humans. It was discovered in 1934 by Karl Meyer and John Palmer in the vitreous of bovine eyes. The hyaluronic acid is found in most connective tissues and is particularly concentrated in the synovial fluid, vitreous fluid of the eye, umbilical cord and rooster combs. In the field of ophthalmology hyaluronic acid has played an important role since its inception and today continues to demonstrate its utility in different fields of vision science.

Keywords: hyaluronic acid, ocular diseases, dry eye.

O ácido hialurônico e suas aplicações oftalmológicas

Resumo

O ácido hialurônico é um biopolímero de origem natural que têm importantes funções biológicas em bactérias e animais superiores, incluindo seres humanos.

Foi descoberto em 1934 por Karl Meyer e John Palmer no humor vítreo de olhos bovinos.

O ácido hialurônico encontra-se na maioria dos tecidos conectivos e está particularmente concentrado no líquido sinovial, o fluido vítreo do olho, cordão umbilical e cristas de galo. No âmbito oftalmológico, o ácido hialurônico teve um importante papel a partir de seus começos e hoje continua demonstrando a sua utilidade em diferentes campos da ciência da visão.

Palavras chave: ácido hialurônico, doenças oculares, olho seco.

Introducción

El ácido hialurónico o su sal sódica —hialuronato de sodio (AH)— es un polímero lineal, de alto peso molecular y origen natural; cuya unidad monomérica está constituida por el disacárido compuesto por N-acetil-β-D-glucosamina y ácido β-D-glucurónico. El AH está ampliamente distribuido en el cuerpo humano formando parte de la piel, matriz extracelular, cordón umbilical, fluido sinovial y humor vítreo¹⁻². El AH es un material biocompatible, biodegradable, con propiedades viscoelásticas e interacción con el agua únicas que lo hacen extremadamente adaptable a las necesidades de los productos médicos y oftalmológicos. Numerosas aplicaciones médicas del AH se han comunicado en la literatura científica, entre ellas el uso en ortopedia³, osteoartritis⁴⁻⁵, cirugía ocular y soluciones oftálmicas⁶. Varios productos oftalmológicos que contienen AH se han utilizado en el reemplazo del humor vítreo y la protección de la córnea en cirugías oculares. También se lo utiliza como agregado en lentes de contacto para mejorar su mojado y su confort⁷.

Producción de AH

En la década del 70, Balazs y colaboradores desarrollaron un procedimiento para aislar, purificar e identificar el AH a partir de crestas de gallo y cordón umbilical humano⁸. Desde entonces, se ha producido AH a partir de crestas de gallo a escala industrial. Sin embargo, estos procesos se enfrentan a una preocupación creciente por el uso de productos derivados de animales para aplicaciones biomédicas y farmacéuticas debido en gran parte a la presencia de impurezas proteicas. Aislar AH de alto peso molecular a tasas industrialmente viables a partir de estas fuentes es un proceso difícil y costoso⁹. Por lo tanto, la fermentación microbiana surgió como una nueva técnica para la producción de AH. La producción bacteriana de AH a partir de una cepa de *Streptococcus zooepidemicus* fue descrita por primera vez en 1989¹⁰ dando lugar a la comercialización del primer AH fermentado en cantidades más grandes y a través de un proceso más rentable. El AH producido por las bacterias tiene un mayor grado de pureza que el obtenido de fuentes animales. No obstante, los estreptococos son patógenos por naturaleza y poseen requisitos muy exigentes. Finalmente, en ambos métodos de producción se hace purificaciones mediante disolventes orgánicos.

Propiedades físico-químicas del AH

El ácido hialurónico es un polímero lineal de alto peso molecular perteneciente al grupo de mucopolisacáridos o glicosaminoglicanos^{2, 11-12}. Se sabe que estos polisacáridos influyen en la distribución de agua en los tejidos conectivos, incluyendo el estroma corneal¹³.

En solución, las cadenas de AH tienen una estructura espiral aleatoria cuyo tamaño varía con propiedades físico-químicas tales como la acidez o basicidad, concentración de sales y velocidad de cizallado. El aumento de la temperatura y de la velocidad de cizallado provocan el adelgazamiento de la solución o la disminución de su viscosidad. Del mismo modo, el pH alcalino conduce a una estructura molecular más flexible¹⁴. Las cadenas de AH se contraen con el incremento de la fuerza iónica y disminución del pH, indicativos de su comportamiento polielectrolítico. Estas características de polielectrolito débil del AH hacen del mismo un material muy adecuado para aplicaciones oftálmicas.

Además de las propiedades viscoelásticas, el AH posee también buena retención de agua. Debido a su fuerte naturaleza aniónica, la estructura de las cadenas de AH actúa atrapando el agua entre las cadenas en espiral, lo que supone una fuerte capacidad de retención del agua. Esta propiedad también puede ser atribuida al alto número de grupos hidroxilo que le proporcionan la capacidad de formación de enlaces de hidrógeno^{12, 15-16}.

AH en el ojo

Se encuentran varios informes en la literatura científica en los que se evidencia la presencia de AH en lágrima humana. Se encontró que la concentración de AH en lágrimas humanas varía de 12 a 1.900 ng/ml. Observándose además que el AH es secretado por las células epiteliales conjuntivales, sugiere que puede ser la fuente de AH en el líquido preocular¹⁷. Un estudio similar recogiendo lágrimas de pacientes normales y muestras de lágrima de pacientes con enfermedad de la córnea encontró AH con una concentración de 273 ± 266 ng/ml para las lágrimas de los ojos normales y 205 ± 134 ng/ml para los pacientes con enfermedad corneal¹⁸.

Uso del AH en segmento anterior

Se han realizado muchos estudios para evaluar la seguridad y eficacia del AH en el segmento ante-

rior del ojo¹⁹⁻²⁴. Un estudio realizado para evaluar los efectos de la AH en conejos blancos japoneses no encontró cambios significativos en la apariencia general, el comportamiento, el peso corporal, la mortalidad o el consumo de alimentos cuando se administró gotas de hialuronato de sodio o placebo. Las observaciones de la conjuntiva, la córnea, el iris, el cristalino y el reflejo corneal, junto con la actividad de lisozima en lágrima, tampoco mostraron diferencias significativas. Se encontró que el uso de AH es seguro como un tratamiento oftálmico en modelos animales²².

La combinación de las propiedades higroscópicas y viscoelásticas del AH lo convierten en un material muy adecuado para aplicaciones biomédicas. Un hialuronato de sodio al 1% comercial Healon® (Abbott Medical Optics, Abbott Park, Illinois, Estados Unidos) ha sido utilizado ampliamente en cirugía ocular. Aunque fue desarrollado para reemplazar al humor vítreo, también se ha utilizado para proteger el endotelio corneal de un trauma mecánico durante la cirugía de cataratas y se extiende sobre la superficie del cristalino y el iris antes de suturar el injerto durante la queratoplastia, proporcionando una mejor transparencia del injerto. También se puede utilizar para el desenrollado y reposicionamiento de la retina después de una separación, lisis de sinequias anteriores y como un dispositivo mecánico para la separación de tejido y adherencias¹⁵. En comparación con otros dispositivos viscoquirúrgicos utilizados para esta aplicación como hidroxipropilmetilcelulosa y glutamato de quitosano, el AH tiene la ventaja de ser un componente natural del cuerpo vítreo. Su capacidad de retención de agua y las interacciones con los receptores CD44 y RHAMM celulares le permiten al AH unirse a las membranas celulares y proporcionar una interacción biológica adhesiva con los tejidos naturales, conduciendo a una mejor capacidad para mantener el espacio de la cámara anterior²⁵.

El AH se ha utilizado también en las lágrimas artificiales para el tratamiento del síndrome del ojo seco^{11, 20-24}. Stuart y Linn utilizaron Healon en un ensayo (ciego simple) para evaluar su eficacia como tratamiento para el ojo seco. Catorce pacientes con queratitis seca y a 10 pacientes con otros trastornos de la córnea (distrofia del epitelio corneal, irritación inducida por lentes de contacto, penfigoide ocular, queratitis filamentosa y queratitis neurotrófica) se les pidió usar gotas de hialuronato de sodio cuatro

veces al día. De los 14 pacientes con queratitis seca, trece informaron un alivio definitivo de síntomas de ojo seco en unos pocos días de la iniciación de tratamiento. Nueve de los 13 mostraron una mejora objetiva en la tinción de la córnea; sin embargo la tinción corneal no se eliminó y fluctuaron los patrones de tinción. Los síntomas mejoraron en el grupo de 10 pacientes con otros trastornos de la córnea pero en menor medida que el grupo con queratitis seca. Es de destacar que tres pacientes con irritación inducida por lentes de contacto, que colocaron una gota de la solución de AH en sus lentes de contacto antes de la inserción, comunicaron una mayor comodidad y un mayor tiempo de uso.

Aplicaciones en lentes de contacto y su cuidado

Pocos estudios informaron sobre el uso de AH con lentes de contacto^{7, 26-30}. Un estudio para determinar si el AH se podría utilizar para inhibir la adhesión bacteriana sobre la superficie de lentes de contacto fue llevado a cabo con AH: un 2% se probó contra 14 cepas bacterianas aisladas de lentes de contacto blandas desechables usadas por pacientes. El AH no actuó como inhibidor o promotor de la adhesión bacteriana en las superficies de las lentes²⁷.

Recientemente se han sintetizado lentes de contacto de hidrogel capaces de liberar ácido hialurónico a una velocidad controlada. La velocidad y la cantidad de AH liberado puede ser modulada al variar las cantidades de monómeros funcionales incorporados en las lentes. Estas fueron diseñadas para la liberación de AH con fines terapéuticos en el ojo para mejorar la humectabilidad de las lentes de contacto y para tratar los síntomas de ojo seco³¹.

Conclusiones

El AH es un componente vital de la fisiología ocular que proporciona la viscosidad requerida por el humor vítreo y mantiene hidratado el epitelio corneal. La capacidad del AH de ser uno de los lubricantes naturales del ojo se ha utilizado para desarrollar aplicaciones oftálmicas como reemplazo del humor vítreo natural, protección del endotelio corneal contra el trauma mecánico durante cirugía y para imitar lágrimas naturales en el tratamiento del ojo seco. Las posibles aplicaciones del AH en productos oftálmicos ha aumentado y sigue en crecimiento con su introducción en el campo de las lente de contacto.

Referencias

1. Laurent UBG, Reed RK. Turnover of hyaluronan in the tissues. *Advanced Drug Delivery Reviews* 1991; 7: 237-256.
2. Milas M, Rinaudo M. Characterization and properties of hyaluronic acid (Hyaluronan). En: Severian D. (eds.). *Polysaccharides: structural diversity and functional versatility*. 2nd ed. New York: CRC Press, 2004, p. 535-549.
3. Witteveen AGH, Sierevelt IN, Blankevoort L, Kerkhoffs GMMJ, Dijk CN van. Intra-articular sodium hyaluronate injections in the osteoarthritic ankle joint: effects, safety and dose dependency. *Foot Ankle Surg* 2010; 16:159-163.
4. Salk RS, Chang TJ, D'Costa WF, Soomekh DJ, Grogan KA. Sodium hyaluronate in the treatment of osteoarthritis of the ankle: a controlled, randomized, double-blind pilot study. *J Bone Joint Surg* 2006; 88: 295-302.
5. Strand V, Conaghan PG, Lohmander LS *et al*. An integrated analysis of five double-blind, randomized controlled trials evaluating the safety and efficacy of a hyaluronan product for intra-articular injection in osteoarthritis of the knee. *Osteoarthritis & Cartilage* 2006; 14: 859-866.
6. Nakamura M, Sato N, Chikama T-I, Hasegawa Y, Nishida T. Hyaluronan facilitates corneal epithelial wound healing in diabetic rats. *Exp Eye Res* 1997; 64: 1043-1050.
7. Fonn D. Targeting contact lens induced dryness and discomfort: what properties will make lenses. *Optom Vis Sci* 2007; 84: 279-285.
8. Balazs EA, Gibbs DA. The rheological properties and biological function of hyaluronic acid. En: Balazs EA (ed.). *Chemistry and molecular biology of the intercellular matrix*. New York: Academic Press, 1970, p. 1241-1253.
9. O'Regan M, Martini I, Crescenzi F, De Luca C, Lansing M. Molecular mechanisms and genetics of hyaluronan biosynthesis. *Int J Biolog Macromol* 1994; 16: 283-286.
10. Akasaka H, Komasaki H, Arai T. Fermentation method for producing hyaluronic acid. U.S. Patent 4801539: 1989.
11. Stuart JC, Linn JG. Dilute sodium hyaluronate (Healon) in the treatment of ocular surface disorders. *Ann Ophthalmol* 1985; 17: 190-192.
12. Hargittai I, Hargittai M. Molecular structure of hyaluronan: an introduction. *Structural Chemistry* 2008; 19: 697-717.
13. Davies A, Gormally J, Wyn-Jones E. A study of hydration of sodium hyaluronate from compressibility and high precision densitometric measurements. *Int J Biolog Macromol* 1982; 4: 436-438.
14. Scott JE, Cummings C, Brasst A, Chen Y. Secondary and tertiary structures of hyaluronan in aqueous solution, investigated by rotary shadowing-electron microscopy and computer simulation. *Biochemical J* 1991; 274: 699-705.
15. Polack FM. Healon(R) (Na hyaluronate): a review of the literature. *Cornea* 1986; 5: 81-94.
16. Cantor JO, Nadkarni PP. Hyaluronan: the Jekyll and Hyde molecule. *Inflammation & Allergy-Drug Targets* 2006; 5: 257-260.
17. Frescura M, Berry M, Corfield A, Carrington S, Easty D. Evidence of hyaluronan in human tears and secretions of conjunctival cultures. *Biochemical Society Transactions* 1994; 22: 228S.
18. Fukuda M, Miyamoto Y, Miyara Y, Mishima H, Otori T. Hyaluronic acid concentration in human tear fluids. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: S848.
19. Berry M, Pastis W, Ellingham R *et al*. Hyaluronan in dry eye and contact lens wearers. *Adv Exp Med Biol* 1998; 438: 785-790.
20. Hamano T, Horimoto K, Lee M, Komemushi S. Sodium hyaluronate eyedrops enhance tear film stability. *Jpn J Ophthalmol* 1996; 40: 62-65.
21. Johnson ME, Murphy PJ. Effectiveness of sodium hyaluronate eyedrops in the treatment of dry eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006; 244: 109-112.
22. Miyauchi S, Sugiyama T, Machida A. A 26-week ophthalmic instillation test of sodium hyaluronate in rabbits. *Pharmacometrics* 1993; 46: 317-328.
23. Prabhasawat P, Tesavibul N, Kasetsuwan N. Performance profile of sodium hyaluronate in patients with lipid tear deficiency: randomised, double-blind, controlled, exploratory study. *Br J Ophthalmol* 2007; 91: 47-50.
24. Sand BB, Marner K, Norn MS. Sodium hyaluronate in the treatment of keratoconjunctivitis sicca. *Acta Ophthalmol* 1989; 67: 181-183.
25. Maltese A, Borzacchiello A, Mayol L *et al*. Novel polysaccharides-based viscoelastic formulations for ophthalmic surgery: rheological characterization. *Biomaterials* 2006; 27: 5134-5142.

26. Itoi M, Kim O, Kimura T *et al.* Effect of sodium hyaluronate ophthalmic solution on peripheral staining of rigid contact lens wearers. *CLAO J* 1995; 21: 261-264.
27. Pustorino R, Nicosia R, Sessa R *et al.* Effect of bovine serum, hyaluronic acid and netilmicine on the in vitro adhesion of bacteria isolated from human-worn disposable soft contact lenses. *Annali di Igiene: Medicina Preventiva e di Comunita* 1996; 8: 469-475.
28. Van Beek M, Jones L, Sheardown H. Hyaluronic acid containing hydrogels for the reduction of protein adsorption. *Biomaterials* 2008; 29: 780-789.
29. Van Beek M, Weeks A, Jones L, Sheardown H. Immobilized hyaluronic acid containing model silicone hydrogels reduce protein adsorption. *J Biomaterials Sci, Polymer Ed.* 2008; 19: 1425-1436.
30. Jones L, Mann A, Evans K, Franklin V, Tighe B. An in vivo comparison of the kinetics of protein and lipid deposition on group II and group IV frequent-replacement contact lenses. *Optom Vis Sci* 2000; 77: 503-510.
31. Ali M, Byrne ME. Controlled release of high molecular weight hyaluronic acid from molecularly imprinted hydrogel contact lenses. *Pharmaceutical Res* 2009; 26: 714-726.