

# Kollagen – Aufbereitung und Eigenschaften als Biomaterial

Hartmut F. Hildebrand<sup>1</sup>,  
Philippe Rocher<sup>1,2</sup>, Fran-  
cine Monchau<sup>1</sup>, Elisa-  
beth Delcourt-Debruyne<sup>3</sup>

## Schlagworte:

Struktur – Synthese –  
Aufbereitung – Kom-  
positen – Auflösung

*Kollagen wird in nahezu allen Zelltypen produziert, vor allem in Fibroblasten, Chondroblasten und Osteoblasten, und ist ein wesentlicher Bestandteil der extrazellulären Matrix (EZM). Es ist ein Strukturprotein in Bindegeweben, Blutgefäßen und Atemwegen und ein Gerüstprotein für Knorpel, Knochen und Dentin. Die Kollagensynthese findet im endoplasmatischen Retikulum statt, von wo es nach mehreren Hydroxylations- und Glykolysations-Schritten als Tropokollagen in das extrazelluläre Milieu ausgeschieden wird. Dort legen sich auch die Molekülketten zu Fibrillen, Filamenten und Bündeln zusammen.*

*Kollagen ist ein biodegradierbares Biopolymer mit hämostatischer Wirkung und leitet nur in Ausnahmefällen immunogene Reaktionen ein. Es fördert die Proliferation, Migration und Adhäsion der Zellen während der Geweberegeneration und Wundheilung. Es wird im Wesentlichen aus Rindergewebe über langwierige Reinigungsprozesse gewonnen.*

*Eine Verwendung als Biomaterial findet es in reiner Form oder verbunden mit anderen Polymeren (PLA, PGA, PE, PET) zur gesteuerten Geweberegeneration (GGR), mit Keramiken wie Hydroxylapatit oder  $\beta$ -Tri-Calcium-Phosphat als Knochenfüllmittel, oder mit Hydrogelen (PHMMA) zur Wundheilung. Letztere bieten ebenfalls große Vorteile zur Herstellung biodegradierbarer Materialien mit gesteuerter Drogenabgabe wie Antibiotika oder Wachstumsfaktoren.*

*Das ansteigende Risiko von Kontaminationen, insbesondere BSE, stimulieren die Entwicklung neuer Reinigungsverfahren, einerseits, und neuer synthetischer Ersatzmaterialien, andererseits.*

## Einleitung

Kollagen ist im lebenden Organismus ein omnipresentes Biopolymer und wird in vielfältigen Zelltypen synthetisiert, insbesondere in Fibroblasten, Osteoblasten und Odontoblasten. Nahezu jeder andere Zelltyp kann es in geringeren Mengen produzieren, solange dieser sich in einem dichten Gewebeverband befindet. Kollagen ist mit Fibronectin wohl das häufigste Protein der extrazellulären Matrix (EZM). Es ist unentbehrlich als Strukturprotein in jedem Typ von Bindegewebe wie z. B. als Stütze im Hautgewebe oder als Netzwerk im Fettgewebe. Als Gerüstprotein hat es eine fundamentale Aufgabe für den Aufbau von Knorpel, Knochen- und Dentin.

Im folgenden Übersichtsbericht wollen wir die verschiedenen Aspekte der vielfachen Eigenschaften und Funktionen des Kollagens genauer betrachten [28]. Ein kurzer Blick auf seine Synthese und seine molekulare Struktur soll uns zu einem besseren Verständnis der Primärrolle führen, die das

Kollagen in den Wechselwirkungen auf den Grenzflächen zwischen Gewebe und Material spielt. Dazu wollen wir einen Überblick über die verfügbaren kollagenhaltenden Materialien und deren klinischen Anwendungen geben.

Die einfache Degradierbarkeit des Kollagens erzeugt ein steigendes Interesse für neue Biomaterialien, die zur Freisetzung von Drogen, Medikamenten, Antibiotika und Wachstumsfaktoren eingesetzt werden sollen. Andererseits werden verschiedene Risiken immer augenscheinlicher und begrenzen notgedrungen die Quellen von unkontaminierten Kollagenen, führen aber dabei gleichzeitig zur Entwicklung neuer und vielfacher Ersatzmaterialien.

## Kollagensynthese und molekulare Struktur

Frisch von mRNA synthetisierte Molekülketten werden durch einen transmembranären Transportvorgang in die Kanäle des endoplasmatischen Retikulums eingeschleust. Als erstes werden nun die verschiedenen Signalpeptide abgespalten. Eine darauf folgende Hydroxylation von bestimmten Prolin- und Lysin erleichtert das Binden von Oligosacchariden an die Stickstoffatome. Die nächsten Schritte sind dann die Glykolysation der Hydroxyllysyl-Reste und das Verfügen der verschiedenen Molekülketten mit Hilfe von eingeführten

<sup>1</sup> Laboratoire de Recherche sur les Biomateriaux, UPRES EA 1049, Faculté de Médecine, F- 59045 Lille cedex (France), hildebrand@univ-lille2.fr

<sup>2</sup> Faculté d'Odontologie, 59000 Lille (France)

<sup>3</sup> Laboratoire de Biologie du Parodonte, Faculté d'Odontologie, 59000 Lille (France)

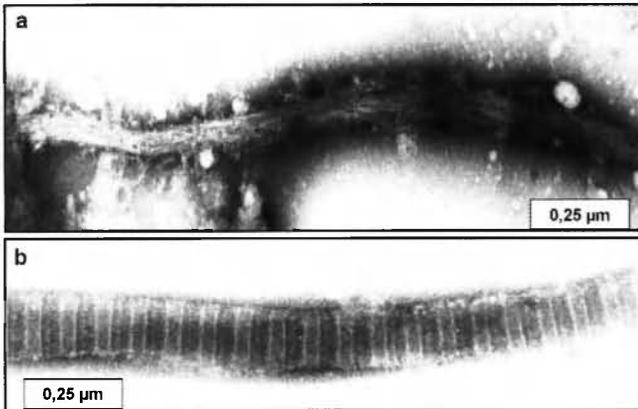


Abb. 1: Der Aufbau von Kollagen von den Mikrofibrillen a) zur fertigen Fiber b) TEM-Aufnahmen nach Negativfixierung mit Phosphorwolfram-Säure

Schwefelbrücken. Dies führt dann direkt zum Aufbau der Dreierhelix des Pro-Kollagens.

Diese Pro-Tropokollagenmoleküle werden in winzigen Vesikeln vom endoplasmatischen Retikulum zur Zellmembran transportiert, wo sie über den sogenannten Exozytose-Prozess in das extrazelluläre Milieu ausgeschieden werden. Nach der Abspaltung der C- und N-treminalen Propeptide werden die Tropokollagenmoleküle zu Mikrofibrillen zusammengebaut (Abb. 1), welche sich weiterhin zu Kollagenfibrillen und schließlich dicken Fibern mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 1-20 µm zusammenfügen (Abb. 2) [19, 28]

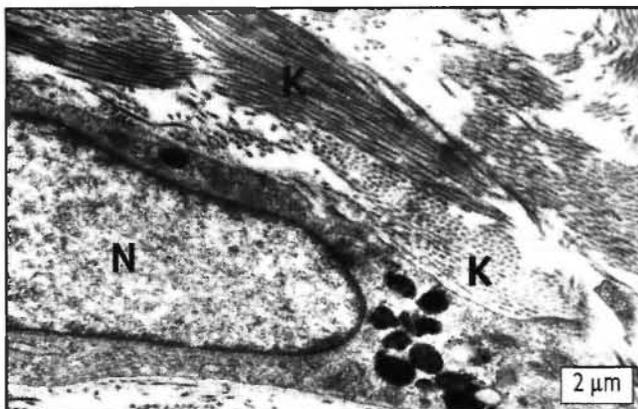


Abb. 2: TEM-Aufnahme von menschlichem Hautbindegewebe mit Fibroblast und Kollagenbündeln (K). N: Nucleus

Ungefähr 20 verschiedene Kollagene sind heute bekannt. Die Eigenschaften dieser Typen hängen natürlich von den produzierenden Zelltypen ab, aber auch von der Funktion, die die Fibern im Gewebe einnehmen sollen [28]. Es wird somit verständlich, dass die Funktionen im Dentin und in Knorpel- oder Knochengewebe mit denen im Hautgewebe, im Fettgewebe, in Ligamenten, in den Atemwegen und in den Blutgefäßen nicht zu vergleichen sind. Diese starken funktionellen Unterschiede bestimmen also unvermeidlich die chemischen, physikalischen und strukturellen Eigenschaften der Kollagene.

Die Dreierhelix-Moleküle als Aufbauelemente der Fibrillen und Fibern führen zu einer bestimmten periodischen Querstruktur von 64 nm. Wenn man auch verschiedene Strukturen beobachten kann, so bleibt die Struktur-Periodizität doch einheitlich und konstant für alle Kollagentypen (Abb. 3) [19, 28].

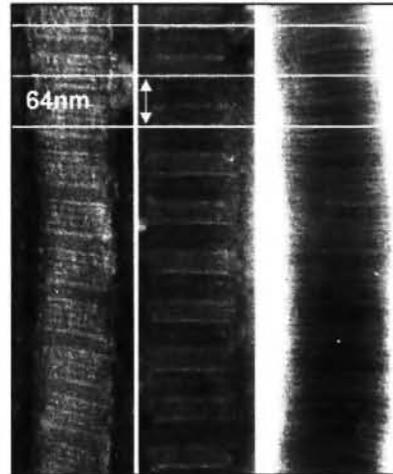


Abb. 3: Verschiedene morphologische Formen von Kollagenfibrillen. Die periodische Struktur von 64 nm bleibt konstant. TEM-Aufnahmen nach Negativfixierung mit Phosphorwolfram-Säure

Die verschiedenen Schritte der intrazellulären Synthese und der darauf folgenden Zellsekretion können heute mit zytochemischen und indirekten immunologischen Methoden verfolgt und nachgewiesen werden. Vielfältige Untersuchungen werden somit an Osteoblasten-Zellkulturen durchgeführt, um die Wirkungen von Biomaterialien und deren optimierten Oberflächen auf den Knochenwuchs zu prüfen (Abb. 4). Die Kollagenfibern legen sich dabei direkt über chemische und/oder physikalische Verbindungen an die Materialoberfläche an (welche auch die Knochensubstanz eines heilenden Knochens sein kann) und erlauben damit den Zellen, auf dem Substrat mit weiterer Hilfe von Fibronectin anzuhafte. Dieses EZM-Protein ist für den Zelladhäsionsprozess von ganz besonderer Bedeutung, da es spezifische Bindungsdomäne für vielfache andere Biomoleküle besitzt, wie insbesondere Fibrine, Heparine, Aktin und Kollagen [33]. Die Zelladhäsion verläuft dann weiterhin durch den Aufbau von fokalen Adhäsionskontakten mit den verschiedenen EZM-Proteinen, transmembranären Integrinen [5] und intrazellulären Strukturproteinen wie z. B. Vinkulin, Talin und Paxillin [27, 37] und Funktionsproteinen wie die fokale Adhäsion-Kinase (pp125FAK) [7] und die GTPase [6]. In diesen fokalen Adhäsionskontakten sind schließlich die Aktinfilamenten und weitere Proteine des Zytoskelettes verankert [5, 37].

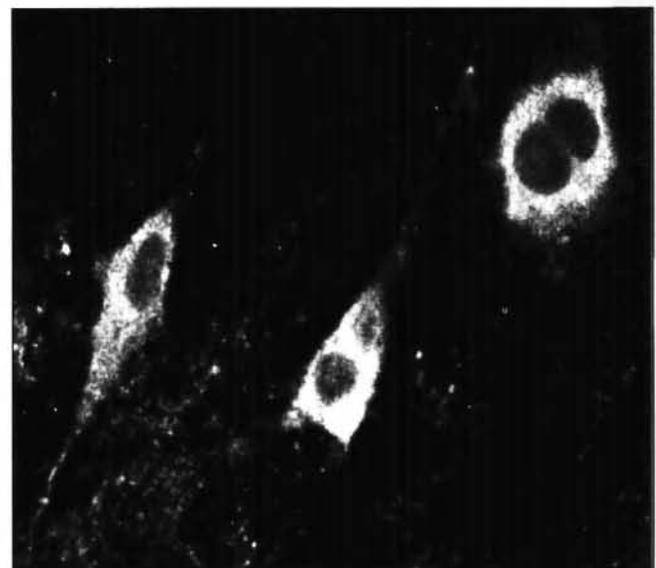


Abb. 4: Immunzytochemische Markierung von intra- und extrazellulärem Kollagen-I in Osteoblasten-Kulturen

**Warum, Woher, für Was und Wie?**

Kollagen hat vielfache Eigenschaften. Es ist ein biodegradierbares und ein biokompatibles Biopolymer – also Naturprodukt – von hoher, durch seine Struktur bestimmte Stabilität und Elastizität. Es hat hämostatische Wirkungen und ruft nur äußerst schwache immunologische Reaktionen hervor. Als EZM-Protein weist es eine ausgezeichnete chemiotaktische Aktivität auf und stimuliert damit Zelladhäsion. Seine selbstregulierende Funktion fördert in einem ersten Schritt Zellwachstum, ab einer gewissen Menge und Dichte leitet es Zelldifferenzierung ein, die bei Chondroblasten, Osteoblasten und Odontoblasten außerdem noch zur Mineralisierung des Gewebes führen. Diese vielfachen Eigenschaften machen es zur Anwendung für die orientierte oder gesteuerte Gewebe-Regenerierung besonders wertvoll. Die Kollagenquellen sind vielseitig, die Hauptproduktion ist jedoch auf einige Quellen beschränkt. Ein hochreines Gel wird aus Rattenligamenten hergestellt. Rindergewebe (Ligamente, Caecum, Haut) sind jedoch heute die absolute Hauptbezugsquelle [28]. Obwohl die menschliche dura mater das Material mit – biologisch-medizinisch gesehen – idealem Ursprung ist, so ist diese Quelle durch die möglichen Kontaminationen zu einer sehr reduzierten Ausbeutung gekom-

- |                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------|
| 1. Quelle: Kalbsfell                                                    |
| 2. Erster Waschgang                                                     |
| 3. Chemischer Aufbruch (H <sub>2</sub> O, Löschkalk, Na <sub>2</sub> S) |
| 4. Schaben                                                              |
| 5. Mechanische Splitterung                                              |
| 6. NaOH-Laugenbehandlung                                                |
| 7. Entkalkung (NH <sub>3</sub> Cl, usw.)                                |
| 8. Zweiter Waschgang und Aufbruch (H <sub>2</sub> O)                    |
| 9. Säureschwellung (Monodichloro-Essigsäure)                            |
| 10. Zentrifugieren der Fibern                                           |
| 11. Ausfällung (NaCl, H <sub>2</sub> O, Ultrafiltration)                |
| 12. Zentrifugieren                                                      |
| 13. Dritter Waschgang mit Trocknen H <sub>2</sub> O-Azeton: 5 Zyklen    |
| 14. Homogenisieren                                                      |
| 15. Vakuum-Aufschluss (100° C, 24 Stunden)                              |
| 16. Wasser-Dispersion                                                   |
| 17. Filtrieren                                                          |
| 18. Lyophilisieren                                                      |
| 19. Verpacken                                                           |
| 20. Sterilisieren                                                       |

Tab. 1: Schematische Kurzfassung der Kollagenherstellung und dessen Reinigung

Medizinische Disziplin	Anwendungsbereich
Gefäß-Chirurgie	Gefäßprothesen, Herzschleusen, Herzklappen
Zahnmedizin	Knochenaufbau, peridontale Haftstelle, GGR
Dermatologie	Gewebeaufbau, Wundheilung, Verbrennungsheilung
Neurochirurgie	Nervenleitungen (GGR*), Nervenheilung
Ophthalmologie	Cornea-Implantate, Glaskörper-Ersatz, Retina-Anheftung
Orthopädie (Kieferorthopädie)	Knochenheilung, Knochenfüllung (GGR), Knorpel- und Ligament-Rekonstruktion
HNO-Medizin	Tympanon-Ersatz, Knorpel-Rekonstruktion
Urologie	Ureter-Prothesen, Dialyse-Membranen
Andere	Drogenabgabe-Systeme

\* GGR: gesteuerte, orientierte Gewebe-Regenerierung

Tab. 2: Kollagenanwendungen in verschiedenen medizinischen Gebieten

men [31]. Zur Zeit der Redaktion der vorliegenden Arbeit hat auf dem europäischen Markt nur noch ein einziges Produkt menschlicher Herkunft den extremen Reinheitsanforderungen Stand gehalten.

Die Aufbereitung des Kollagens von frischem Gewebe bis zum zum Verkauf erlaubten Endprodukt ist lang. Viele mechanische, physikalische und chemische Vorgänge werden angewandt, davon einige in mehrfach wiederholten Reinigungszyklen (Tab. 1). Verschiedene andere Behandlungen sind heute bereits dazugekommen [9], dabei sollte man insbesondere die vielfachen Bestrahlungsmöglichkeiten in Betracht nehmen.

**Klinische Anwendungen**

Kollagen findet reichliche und sehr vielseitige Anwendungen in nahezu allen medizinischen Fachgebieten und wird für multiple Organ- oder Gewebeersätze angewandt (Tab. 2):

- Knochenfüllung und Knochenaufbau
  - Wundheilungssysteme
  - Prothesen und Implantate
  - Dialyse-Membranen
  - Gesteuerte Medikament- und Drogenabgaben
- Reines, natürliches Kollagen findet man nach wie vor als chirurgische Fäden („cat gut“) auf dem Markt [21].

**Kollagen-Polymer-Materialien**

Ein weiterer Anwendungsbereich ist die gesteuerte oder orientierte Gewebe-Regenerierung (GGR). Dazu werden Membranen aus reinem Kollagen benutzt [32], oder in denen Kollagen mit Polylaktischer Säure (PLA), Polyglykol Säure (PGA) oder beiden (PLAGA) vereint ist [35]. Vielzählige andere Polymere können auch gemeinsam mit Kollagen angewandt werden: Polypropylen (PP), Polyethylen (PE), Polyethylen-Terephthalat (PET), Polymethylmetacrylat (PMMA), Polyacrylamide (PAA), Polytetrafluoroethylen (PTFE), Polyvinylidendifluoren (PVDF) usw.

Dabei kann Kollagen bereits im Polymerisationsprozess hinzugefügt werden, in Gel-Form auf das Polymersubstrat aufgetragen werden oder chemisch auf PMMA oder ähnliche Polymere in Lamellen- oder Blattform mit Hilfe einer Zwischenschicht von Polyacrylamiden aufgepflanzt werden (Abb. 5) [17]. Der hydrophobe und demzufolge zelladhäsions-feindliche Charakter der Polymeroberfläche kann damit in eine hydrophile und zellfreundliche Grenzfläche umgewandelt werden, die das Zellwachstum signifikant erhöht und das Einwachsen eines Implantates grundsätzlich verbessert.

Das Auftragen von Kollagen-Gelen auf die Innenseite von PET-Gefäßprothesen ist heute eine geläufige Anwendung.

Die Wirkung des Kollagens ist dabei doppelt: Es setzt signifikant den thrombogenen Charakter der reinen Substratoberfläche herab und unterstützt gleichzeitig eine beschleunigte Besiedlung der Prothesen-Innenwand mit Endothelzellen, die wiederum andauernd das Auftreten von Thrombosen verhindern sollen.

**Kollagen-Keramik-Kompositen als Knochenersatz**

Eine weitere, sehr bedeutende Anwendung findet Kollagen in Verbindung mit Knochenfüllmitteln für eine beschleunigte Knochenheilung und/oder zur Vergrößerung der Knochenmasse [34]. Für diese Füllmittel ist Kollagen nicht mehr mit Polymeren als Grundsubstanz gemischt, sondern mit Mineralstoffen oder Keramiken wie Hydroxylapatit (HA) [8],  $\beta$ -Tri-Calcium-Phosphate ( $\beta$ -TCP), Siliciumphosphate wie Bioglass (4555) [12] usw. Diese Mischungen können dann noch mit Drittmolekülen (Elastin, Fibronectin, Glykosaminglykane

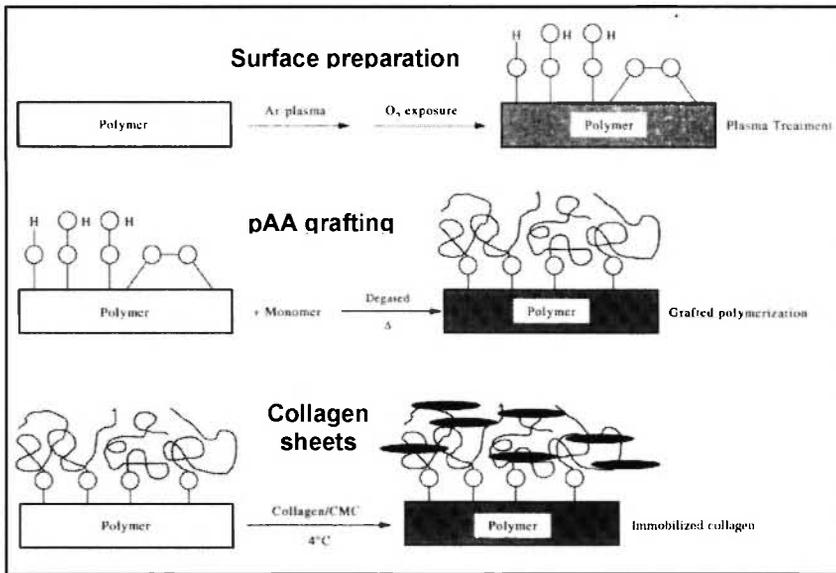


Abb. 5: Kollageneinpflanzung in Blättchen- oder Lamellenform auf einer PMMA-Unterlage über verschiedene Verfahrensstufen: Argon-Kaltplasma-Behandlung, Oxydation, Polyacrylamid-Beschichtung (pAA), Kollagenbeschichtung (Nach Lee et al. 1996) [17]

(GAG, Hyaluronsäure) [25, 30] oder Drittmaterialien (Kohlefasern, Mg-Silicaten) angereichert werden [3, 18, 22]. Auch das Naturprodukt, d. h. hoch gereinigter, deproteinisierter Knochen, der ja nichts anderes als Kollagen und Hydroxylapatit ist, findet nach wie vor einen breiten Verbrauch (Abb. 6).

Der Anwendungsbereich für diese Kollagen-Keramik-Gemische ist sehr groß. Man benutzt sie, um nur einige Beispiele zu nennen:

- als Füllmittel nach Resektion von Knochentumoren in allen Skelettbereichen, einschließlich Wirbelsäule;
- als Füllmittel für Sinushöhlen zum besseren Einsatz von Oberkieferzahnimplantaten;
- als nicht abbaubarer oder als umbaubarer Knochenersatz nach Splitterbrüchen, ins besondere in Gelenken (Hand- und Fußknochen) und in der Gesichts- und Kieferregion (Orbitaleböden, Stirnhöhlen, Joch- und Nasenbein);
- als Aufbaumittel zur Vergrößerung der Knochenmasse von Kieferknochen, um die Einpflanzung, die Heilung und die notwendige Stabilität von Zahnimplantaten zu optimieren.

Zur Knorpelrekonstruktion werden seit einiger Zeit auch mit demineralisiertem Knochenpulver angereicherte Kollagenschwämme eingesetzt [20]. Die poröse Struktur dieser Schwämme und ihr hoher Gehalt an Kollagen beschleunigen in sehr befriedigender und signifikanter Weise die Knorpelinduktion und Knorpelkonduktion.

#### Waxe und Gele

Eine weitere Materialgruppe sind Waxe und Gele. Diese Materialien werden zur Wundheilung, Hautregenerierung und für die plastische Chirurgie zu esthetischen Zwecken angewandt.

Zur Wundheilung werden Gele benutzt, die neben dem Kollagen biologisch aktive Moleküle - wie z. B. Polyethylenglykol - besitzen. Die dadurch erzeugte primäre hämostatische Wirkung erleichtert wesentlich und beschleunigt signifikant den darauf folgenden Heilungsprozess.

Die Hautregenerierung wird durch Kollagen-Gele verbessert, die verschiedene Peptide (z. B. Gly-His-Lys) enthalten und

zusätzlich mit Glykosaminyglykanen (GAG) als EZM-Ersatz angereichert sind. Die kombinierte Wirkung von Kollagen als Stütz- und Adhäsionsprotein und der GAG als Stimulatoren der Zellproliferation und Zellmigration führen zu einem optimalen Wachstum sowohl der Dermis als auch der Epidermis [25, 26].

Kollagen-Hyaluronsäure Gemische werden vor allem für die plastische Chirurgie verwendet. Das in die Hyaluronsäure eingebettete Kollagen bildet eine Gel-Matrix, die vor der Anwendung getrocknet wird und dann unter die Haut (falten) eingespritzt wird. Das durch die Körperflüssigkeit aufschwellende Gel hebt die Haut an und erzeugt dadurch ein glattes Hautgewebe. Je nach dem Anwendungssitus erscheinen dadurch Lippen etwas voller und mehr oder minder tiefe Hautfalten können dadurch verschwinden. Auf Grund der leichten Resorbierbarkeit des Kollagens müssen diese Implantate in regelmäßigen Abständen erneuert werden.

Andere mit Kollagen versetzte Materialien sind die sogenannten Hydrogele, die meist Poly-Hydroxymethylmetacrylat (PHMMA) als Grundsubstanz haben [15]. Diese Materialien werden auf Grund ihrer Geschmeidigkeit für Kontaktlinsen und künstliche Organe eingesetzt, ein Austrocknen sollte aber vermieden werden, da es zur Zerstörung der medizinischen Dispositive führen kann.

#### Drogenabgabe-Systeme

Einen besonderen Vorteil haben diese Kollagen enthaltenden Hydrogele für die Drogen abgebenden Systeme. Der einfache Aufbau und die leichte Resorbierbarkeit des Kollagens können für die kontrollierte Abgabe von physikalisch eingebrachten Drogen, Wachstumsfaktoren und Antibiotika ausgenutzt werden [11, 36]. Dabei kann die Resorptions-Geschwindigkeit des Kollagens für die Abgabe der aktiven Wirkstoffe ein Nachteil sein:

- Wachstumsstoffe können zu schnell und dadurch zu massiv freigesetzt werden, und ihre oft selbstregulierende Funktion kann eventuell eine gegensätzliche Wirkung ausüben, d. h. zur Differenzierung der Zellen und Gewebe führen.



Abb. 6: REM-Aufnahme von gereinigtem, porösem Rinderknochen aus der Schienbeinepiphyse. Handelsprodukt für Knochenimplantate

● Die Freisetzung von Antibiotika ist zu schnell (2-3 Tage) und in zu hohen Konzentrationen, so dass die pharmakologisch aktive Wirkung ausbleibt. Eine Abgabedauer von mindestens 5 Tagen und von geringeren Mengen ist erforderlich, auch um eine Immunreaktion durch Bildung von Antikörpern gegen die Antibiotika zu vermeiden [11, 36].

Andere Forschergruppen haben an diesen Problemen gearbeitet und versucht, die Drogenabgabe durch eine gesteuerte Resorptionsgeschwindigkeit des Kollagens zu verbessern. Dies ist durch das Depolymerisations-Repolymerisations-Verfahren mit Diphenyl-Phosphoryl-Azid (DPPA) zu erreichen, da diese Substanz eine spezifische Wirkung auf die Brücken ("cross-links") zwischen den Molekülketten hat [24]. Dieses Depolymerisations-Repolymerisations-Verfahren hat mehrere fundamentale Vorteile [4]:

● durch die Depolymerisation werden gleichzeitig auch andere fremde, unerwünschte oder kontaminierende Moleküle oder Agenten freigesetzt und herausgelöst, und man erhält dadurch einen sehr hohen Reinheitsgrad des Kollagens;

● die spezifische Wirkung des DPPA auf die Intermolekularbrücken erlaubt es, einen nahezu uneingeschränkten Einfluss auf die Anzahl dieser Brücken zu nehmen;

● die Repolymerisation erlaubt es, die pharmakologisch aktiven Moleküle direkt in das Polymernetz des Kollagens mit einzubauen;

● mit dem DPPA-Verfahren kann man durch gesteuerten, d. h. erhöhten Brückeneinbau die Resorptionsgeschwindigkeit des Kollagens herabsetzen und damit die Rate der Freisetzung der aktiven Moleküle einstellen;

● mit dem DPPA-Verfahren können kollagenhaltige Biomaterialien von extrem hohem Reinheitsgrad und damit kontaminationsfreie Implantate hergestellt werden, was ein weiteres Vorteil für die Sicherheit des Patienten ist.

Die Entwicklung solcher neuen Materialien mit gesteuerter Kollagenresorption ist also von hoher Bedeutung, zumal deren Einsatz in fast allen Organen und Geweben möglich ist.

### Kontaminationsrisiko durch Kollagen

Menschliches sowie auch tierisches Kollagen kann vielfach kontaminiert sein [29]. HIV, Hepatitis-B und Herpes Viren gehören wohl mit zu den gefährlichsten menschlichen Kontaminationsagenten [2]. Die Risikorate des HIV liegt z. Z. noch bei  $9/10^5$  bis  $6/10^6$  Patienten. Ein Ansteigen dieser Rate wird für die nächsten Jahre erwartet. Das Risiko einer Hepatitis-B-Kontamination liegt bei zirka 4 %.

Andere Risiken können über die Transmissiblen Spontanen Schwammförmigen Enzephalopathien (TSSE) erwartet werden, zu denen der Kuru und die Gerstmann-Straussler- und Creutzfeld-Jakob-Krankheiten gehören [23]. Erstere Pathologie wurde durch Kanibalismus im Nordosten Südamerikas verbreitet und ist heute fast ganz zurückgegangen. Das Risiko einer Mensch-zu-Mensch-Übertragung der Creutzfeld-Jacob-Krankheit ist sehr gering:  $1/10^6$  Patienten und weniger [14]. Jüngste Untersuchungen haben aber einen eindeutigen Zusammenhang zwischen der Bovinen Schwammförmigen Enzephalopathie (BSE) und der neuen Form der Creutzfeld-Jakob-Krankheit nachweisen können. Ein signifikanter und bedeutender, heute aber noch unabschätzbarer Anstieg der menschlichen Form der BSE wird in den nächsten zehn Jahren zu erwarten sein.

Andere tierische TSSE sind die Zitterkrankheit des Schafes, der „chronische Verfall“ („chronic decay“) von Damwild und Elchen und die verschiedenen noch undefinierten Enzephalopathien von Katzen und Nerzen. Ein Anstieg bei Katzen wurde ebenso in den letzten 5 Jahren festge-

stellt, ein Verdacht zu einem Zusammenhang zwischen BSE und der Zitterkrankheit von Schafen ist in allerjüngster Zeit aufgekommen, zumal man die Möglichkeit gesunder Krankheitsträger erkannt hat.

### Ersatzmöglichkeiten

Auf Grund der hohen erforderlichen Reinheit der kollagenhaltigen Materialien und der möglichen Gefahr einer Kontamination mit Viren oder Prionen sind in den letzten Jahren die Entwicklung neuer Moleküle, neuer Materialien, aber auch neuer Herstellungs- und Verfahrenstechniken entwickelt worden. Was Membranen und Polymere Materialien anbelangt, unterscheidet man degradierbare und nicht degradierbare Materialien. Polylaktische Säure (PLA), Polyglykol Säure (PGA) oder eine Mischung der beiden (PLA 10 % / PGA 90 %) mit kollagenähnlichen Fibrillenstrukturen auf beiden Seiten einer Folie sind heute bereits auf dem Markt. Weiterhin gehören Oxycellulose und Mischungen aus PLA und Zitronensäureester zu den erfolgversprechenden degradierbaren, kollagenfreien Materialien.

PTFE, PVDF, PE und PET nehmen z. Z. die Listenspitze der nicht degradierbaren Materialien ein [10]. In den meisten Fällen weisen diese Materialien Fibrillenstrukturen auf, da man erkannt hat, dass die Vorteile des Kollagens als Biomaterial nicht allein auf seine biologische Aktivität als EZM-Protein, sondern auch auf seine physikalische Struktur als Stütz- oder Gerüstwerk zurückzuführen sind.

Ähnliche Betrachtungen können auch für das Bioglass 45S5 vollzogen werden, welches als Vollsubstitut für Kollagen-Keramik-Mischungen eingesetzt werden kann, da seine Pulverform nicht nur eine (bio)chemische, sondern auch eine physikalische Aktivität als Knochenersatz oder Knochenfüllung aufweist [13].

### Schlussfolgerungen

Kollagen ist ein sehr brauchbares und erwünschtes Biomaterial für vielfachen Gebrauch in nahezu allen medizinischen Disziplinen. Es existiert als reine Form oder kombiniert mit anderen Materialien wie insbesondere Keramiken, Polymeren und anderen organischen Molekülen. Ein besonderes Interesse gilt ihm auf Grund seiner leichten Biodegradierbarkeit: es kann ihm vorher beigefügte natürliche und biologisch aktive Moleküle freisetzen und ist dadurch ein ideales Material für Abgabesysteme von Drogen, Wachstumsfaktoren, Antibiotika und anderen pharmakologisch aktiven Molekülen. Außerdem kann die Degradierbarkeit einen zweiten chirurgischen Eingriff vermeiden, um das Material eventuell wieder zu entfernen.

Seine Herkunft von menschlichen oder tierischen Quellen kann einige Risiken von Virus- oder Prion-Kontaminationen bringen, deren Ausmaß jedoch zur Zeit noch nicht richtig abgeschätzt werden kann. Kombinierte chemische und physikalische Reinigungs- und Verfahrenstechniken können diese Risiken spürbar reduzieren [1, 9]. Das allgemeine Interesse an Kollagen als Biomaterial sollte weitere Forschung zur Verbesserung der Qualitäten und der Sicherheit kollagenhaltiger Biomaterialien anregen.

### Abstract

Collagen is in the living organism an omnipresent biopolymer which is synthesised in multiple cell types, in particular in fibroblasts, chondroblasts, osteoblasts and odontoblasts, and in lower amounts in nearly any other cell type in tissue connection. It is with fibronectin one of the most important extracellular matrix (ECM) proteins. It is indispensable

as structural protein in any type of connective tissue such as dermal support or adipose tissue, and it gets a strengthened role as scaffold protein in the construction of cartilage, bone and dentine.

In the following, we will consider the different aspects of the multiple properties and functions of collagen. We start with a look on its synthesis and molecular structure and the primary role it has in the tissue / material interface and interaction. What are the available collagen containing materials and their clinical applications. The easy degradation of collagen has an increasing interest for drug delivering, biomaterials. However, certain risks become more obvious, limiting the source of uncontaminated collagen and leading to the development of various substitutes.

### Literaturverzeichnis

[1] Angermann P., Jepsen O.P.: Procurement, banking and decontamination of bone and collagenous allografts: guidelines for infection control. *J Hosp Infec* 17: 159-169, 1991

[2] Anonymous: Transmission of HIV through bone transplantation: case report and public health recommendations. *Centre for Disease Control, Morbidity and Mortality Weekly Report* 37: 587-589, 1988

[3] Bakos D., Soldan M., Hernandez-Fuentes I.: Hydroxyapatite-collagen-hyaluronic acid composite. *Biomaterials*. 20:191-195, 1999

[4] Brunel G., Piantoni P., Elharar F., Benque E., Marin P., Zahedi S.: Regeneration of rat calvarial defects using a bio-absorbable membrane technique: influence of collagen cross-linking. *J Periodontol* 67:1342-1348, 1996

[5] Burridge K., Fath K., Kelly T., Nuckolls G., Turner C.: Focal adhesions: transmembrane junctions between the extracellular matrix and the cytoskeleton. *Ann Rev Cell Biol* 4: 487-525, 1979

[6] Chant J, Stowers L.: GTPase cascades choreographing cellular behaviour: movement morphogenesis and more. *Cell* 81: 1-4, 1995

[7] Defilippi P., Retta Sf., Olovo C., Palmieri M., Venturino M., Silengo L., Tarone G.: pp125FAK tyrosine phosphorylation and focal adhesion assembly: studies with phosphotyrosine phosphatase inhibitors. *Exp Cell Res* 221: 141-152, 1995

[8] Doi Y., Horiguchi T., Moriwaki Y., Kitago H., Kajimoto T., Iwayama Y.: Formation of apatite-collagen complexes. *J Biomed Mat Res* 31: 43-49, 1996

[9] Doillon C.J., Drouin R., Côte M.F., Dallaire N., Pageau J.F.: Chemical inactivators as sterilization agents for bovine collagen materials. *J Biomed Mat Res* 37: 212-221, 1997

[10] Gordh M., Alberius P., Johnell O., Lindberg L., Linde A.: Osteopromotive membranes enhance onlay integration and maintenance in the adult rat skull. *Int J Oral Maxillofac Surg* 27: 67-73, 1998

[11] Grzybowski J., Ko\_odziej W., Trafny E.A., Struyna J.: A new anti-infective collagen dressing containing antibiotics. *J Biomed Mat Res* 36: 163-166, 1997



**Prof. Dr. sc. nat.  
Hartmut F.  
Hildebrand**

Korrespondenzanschrift:  
Prof. Dr. sc. nat. Hartmut F.  
HILDEBRAND  
INSERM Forschungsdirektor  
Laboratoire de Recherche sur  
les Biomateriaux  
UPRES EA 1049  
Faculte de Medecine  
F - 59045 Lille cedex (France)  
Tel.: + 33 (0)320 62 69 75  
Fax.: + 33 (0)320 62 69 75  
hildebrand@univ-lille2.fr

### Akademischer Lebenslauf:

1968-1972 Forschungsassistent, Zoologisches Institut, Wissenschaftliche und Technische Universität Lille Frankreich  
1972 Promotion zum Dr. rer nat.  
1972-1992 Forschungsassistent, Krebsforschungsinstitut, Medizinische Universität Lille Frankreich  
1978 Habilitation  
1979 INSERM Forschungschargierter  
1984-1992 Labordirektor, Institut für Arbeitsmedizin, Medizinische Universität Lille Frankreich  
1992 INSERM Forschungsdirektor (Professor Zellbiologie - Toxikologie)  
1992 Direktor des Labors für Biomaterialforschung

[12] Hench L.L.: Bioactive Ceramics. *Annals New York Academy of Science* 523: 54-71, 1988

[13] Hench L.L.: Bioceramics: From concept to clinic. *J Am Ceram Soc* 74: 1487-1510, 1991

[14] Hildebrand H.F.: Sécurité des implants métalliques. In: Rapport sur l'état des recherches concernant les risques associés à l'utilisation à des fins thérapeutiques de produits d'origine humaine ou de produits et procedes de substitution, Edition INSERM, Paris, pp 241-250, 1995

[15] Jehanthi R., Pandyranga R.: In vivo biocompatibility of collagen-poly(hydroxyethyl methacrylate) hydrogels. *Biomaterials* 11: 238-243, 1990

[16] Khor E.: Methods for the treatment of collagenous tissues for bioprotheses. *Biomaterials*. 18: 95-105, 1997

[17] Lee S.D., Hsiue G.H., Chang P.C.H., Kao C.Y.: Plasma-induced grafted polymerization of acrylic acid and subsequent grafting of collagen onto polymer film as biomaterials. *Biomaterials* 17: 1599-1608, 1996

[18] Li S., Zheng Z., Liu Q., de Wijn J.R., de Groot K.: Collagen/apatite coating on 3-dimensional carbon/carbon composite. *J Biomed Mat Res* 40: 520-529, 1998

- [19] Lodish H., Darnell J., Baltimore D. *La Cellule: Biologie Moléculaire (Molecular Cell biology)*. Editions Vigot, Paris pp178-186 und pp973-983, 1989
- [20] Mizuno S., Glowacki J.: Three-dimensional composite of demineralized bone powder and collagen for in vitro analysis of chondroinduction of human dermal fibroblasts. *Biomaterials* 17: 1819-1825, 1996
- [21] Okada T., Hayashi T., Ikada Y.: degradation of collagen suture in vitro and in vivo. *Biomaterials* 13:448454,1992
- [22] Olmo N., Turnay J., Herrera J.I., Gavilanes J.G. Lizarbe M.A.: Kinetics of in vivo degradation of sepiolite-collagen complexes: Effect of glutaraldehyde treatment. *J Biomed Mat Res* 30: 77-84, 1996
- [23] Ouhayoun J.P.: Risques de transmission à l'homme de pathologies virales par des substituts osseux d'origine humaine ou animale. In: Rapport sur l'état des recherches concernant les risques associés à l'utilisation à des fins thérapeutiques de produits d'origine humaine ou de produits et procédés de substitution, Edition INSERM, Paris, pp 224-230, 1995
- [24] Petite H., Frei V., Huc A., Herbage D.: Use of diphenylphosphorylazide for cross-linking collagen-based biomaterials. *J Biomed Mat Res* 28: 159-165, 1994
- [25] Pitaru S., Noff M., Grosskopf A., Moses O., Tal H., Savion N.: Heparan sulfate and Fibronectin improve the capacity of collagen barriers to prevent apical migration of the junctional epithelium. *J Periodontol* 62: 598-601,1991
- [26] Pohunkova H., Stehlik J., Vachal J., Cech O., Adam M.: Morphological features of bone healing under the effect of collagen-graft-glycosaminoglycan copolymer supplemented with the tripeptide Gly-His-Lys. *Biomaterials* 17: 1567-1574, 1996
- [27] Puelo D.A., Bizios R.: Formation of focal contacts by osteoblasts cultured on orthopedic biomaterials. *J Biomed Mat Res* 26, 291-301, 1992
- [28] Ramshaw J.A.M., Werkmeister J.A., Glattauer V.: Collagen-based Biomaterials. In: *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*. Intercept Ltd, Hampshire UK. Vol. 13, pp335-382, 1995
- [29] Rocher P., Véron C., Vert M., Chanavaz M., Donazzan M., Hildebrand H.F.: Risques et réglementations relatifs aux matériaux utilisés en implantologie et chirurgie maxillo-faciale. *Revue Stomatologie Chirurgie Maxillo-Faciale* 96: 281-292, 1995
- [30] Rovira A., Amedee J., Bareille R., Rabaud M.: Colonization of a calcium phosphate/elastin-solubilized peptide-collagen composite material by human osteoblasts. *Biomaterials* 17: 1535-1540, 1996
- [31] Schick B., Weber R., Mosler P., Keerl R., Draf W.: Langzeitergebnisse frontobasaler Duraplastiken. *HNO* 45: 117-122, 1997
- [32] Schlegel A.K., Möhler H., Busch F., Mehl A.: Preclinical and clinical studies of a collagen membrane (Bio-Gide(r)). *Biomaterials* 18: 535-538, 1997
- [33] Thyberg J., Hultgardh-Nilsson A.: Fibronectin and the basement membrane components laminin and collagen type IV influence the phenotypic properties of subcultured rat aortic smooth muscle cells differently. *Cell Tissue Res* 276: 263-271, 1994
- [34] Véron C., Chanavaz M., Ferri J., Donazzan M., Hildebrand H.F.: Panorama des matériaux actuels pour apport osseux en chirurgie maxillo-faciale et implantologie orale. *Revue Stomatologie Chirurgie Maxillo-Faciale* 96: 274-281, 1995
- [35] Vert M., Li S.M., Spenlehauer G., Guerin P.: Bioresorbability and biocompatibility of aliphatic polyesters. *J Mat Sci Materials in Medecine* 3 : 432-446, 1992
- [36] Wachol-Drewek Z., Pfeiffer M., Scholl E.: Comparative investigation of drug delivery of collagen implants saturated in antibiotic solutions and a sponge containing gentamicin. *Biomaterials* 17: 1733-1738, 1996
- [37] Yamada K.M., Geiger B.: Molecular interactions in cell adhesion complexes. *Curr Opinion Cell Biol*, 9: 76-85, 1997