

# Kollagen-Matrices im Vergleich – *in-vitro* Studien der Universität Bern

Just facts

Im Juni und August 2020 wurden von der Universität Bern zwei Artikel zu präklinischen Studien publiziert, die zum einen die Adsorption und Freisetzung von Wachstumsfaktoren und zum anderen das Wundheilungspotenzial primärer humaner Fibroblasten und parodontaler Ligamentzellen auf vier unterschiedlichen Kollagen-Matrices porcinen Ursprungs untersuchten. Die handelsüblichen Matrices besitzen die Fähigkeit, eine Reihe von Proteinen zu binden, was sie zu einem Träger von Wachstumsfaktoren macht. Die beiden Publikationen, Nica et al. und Lin et al., beschreiben Zellreaktionen auf vier Kollagen-Matrices, die anerkanntermaßen die parodontale Regeneration verbessern.

Weiterhin weisen erste klinische Ergebnisse auf **exzellente Gewebereaktionen** nach der Anwendung der NovoMatrix® hin und bestätigen die Resultate der beiden Publikationen.

## Die drei Phasen der Wundheilung

Die Wundheilung ist in drei Phasen eingeteilt. Diese finden nicht zwangsläufig hintereinander statt, sondern können sich auch überlappen (Abb. 1).

### Die Exsudationsphase

Mechanische Reinigung durch Ausschwemmen von Zelltrümmern. Das Gerinnungs- und Immunsystem werden aktiviert. Leukozyten und Makrophagen beginnen den Abbau von Fremdkörpern durch Phagozytose.

### Die Granulationsphase

Bildung von zell- und gefäßreichem Bindegewebe, dem sogenannten Granulationsgewebe. Nach etwa vier Tagen sprossen bei normaler Wundheilung Kapillargefäße ein, die das Granulationsgewebe versorgen. Fibroblasten unterstützen als Bindegewebszellen den Aufbau des Granulationsgewebes und sorgen für den Kollagenaufbau.

### Die Epithelisierungsphase

Etwa zwischen dem 6. und 10. Tag nach Entstehung zieht sich die Wunde in der Regenerationsphase bei normaler Heilung zusammen. Die Kollagenfasern reifen aus, das Granulationsgewebe wird zu Narbengewebe. Die zunehmende Epithelisierung bringt dann die Wundheilung zum Abschluss.

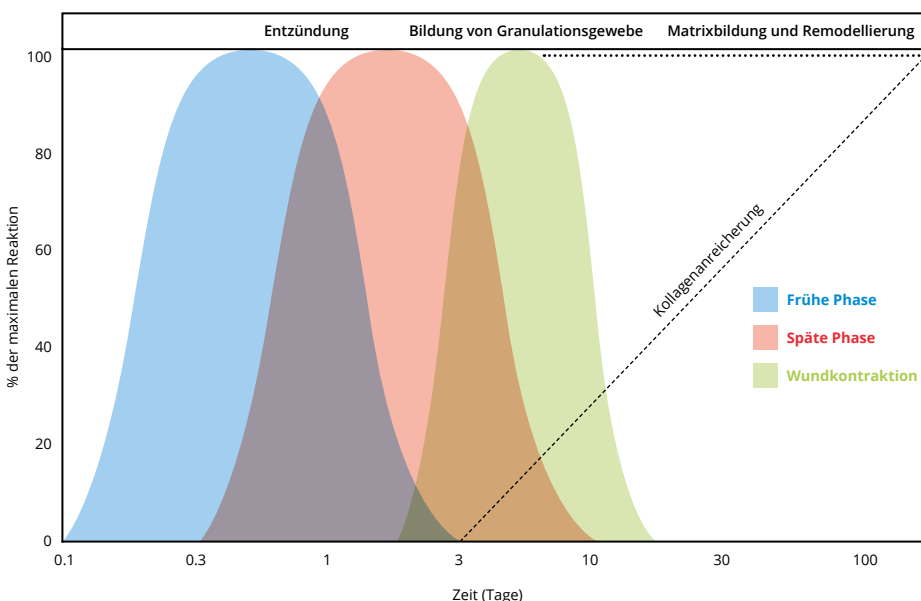


Abb. 1: Phasen der Wundheilung nach Polimeni et al. (Biology and principles of periodontal wound healing / regeneration. Periodontol 2000. 2006;41:37-47.)

# „Adsorption und Freisetzung von Wachstumsfaktoren aus vier verschiedenen Kollagen-Matrices porcinen Ursprungs“

Cristina Nica, Zhikai Lin, Anton Sculean, Maria B. Asparuhova.

Adsorption and Release of Growth Factors from Four Different Porcine-Derived Collagen Matrices.

Materials. 2020 Jun 9;13(11):2635.

## Ziel

Es sollte die Adsorption und Freisetzung von Wachstumsfaktoren aus vier Kollagen-Matrices porcinen Ursprungs mittels enzymgekoppeltem Immunsorptionsassay (ELISA) untersucht werden. Die Freisetzungskinetik der Proteine wurde über einen Zeitraum von 13 Tagen quantifiziert.

## Methode und Ergebnisse

Die Proteinfreisetzung erfolgte im Allgemeinen in zwei Phasen. Phase 1 willkürlich definiert durch die höchste Freisetzung in der Regel innerhalb von 24 Stunden. Phase 2 erstreckte sich über den Zeitraum nach der höchsten Freisetzung bis Tag 13, was der verzögerten Freisetzung der Wachstumsfaktoren aus den tieferen Schichten der Matrices entsprach. Die Kollagen-Matrices sind in der Lage, Zellen unterschiedlicher Phänotypen anzuziehen, die anschließend Faktoren für die Weich- und Hartgeweberegeneration, einschließlich Gewebeumbau und Vaskularisierung, exprimieren und sezernieren. Unter diesen Faktoren spielen TGF- $\beta$ 1, FGF-2, PDGF-BB und BMP-2 eine zentrale Rolle bei der Gewebereparatur und beim Gewebeumbau. Die Adsorptionsrate und die Freisetzungskinetik der Wachstums- und Differenzierungsfaktoren aus den Matrices sind die wichtigsten Aspekte, wenn es um die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Matrices geht.

NovoMatrix® (HADM) zeigte im Vergleich zu den anderen Matrices frühere Freisetzungspikes nach 1 Stunde und 3 Tagen und zusätzlich einen dritten Peak an Tag 9 (Abb. 2), wobei 84,3 % des Wachstumsfaktors (BMP-2) innerhalb von 9 Tagen in das Medium abgegeben wurden. Die Gesamtmenge an BMP-2 wurde innerhalb von 13 Tagen abgegeben.

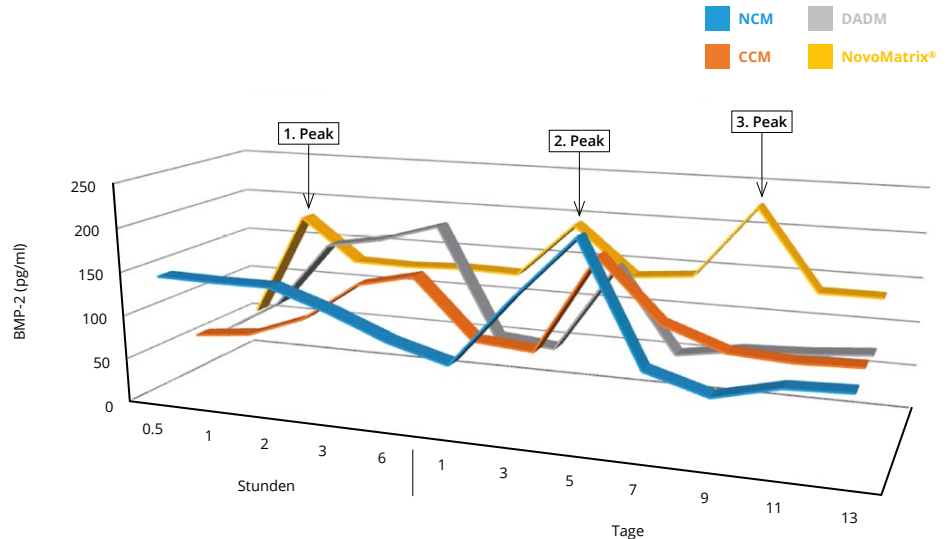
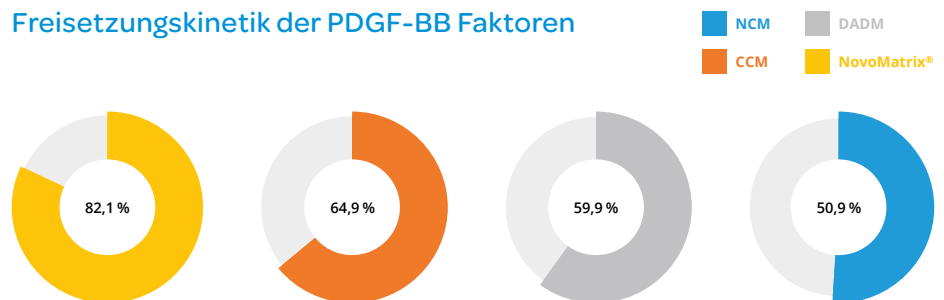


Abb. 2: Die Freisetzung an BMP-2 während des gesamten 13-Tage-Zeitraums

## Freisetzungskinetik der PDGF-BB Faktoren



Die höchste Menge an PDGF-BB, die innerhalb der 13-Tage-Frist 82,1% der gesamten freigesetzten Wachstumsfaktoren entspricht, wurde in der zweiten Freisetzungphase für NovoMatrix®, beobachtet.

## Zusammenfassung

- Die effiziente Adsorption und anhaltende Proteinfreisetzung in den ersten 13 Tagen der NovoMatrix® können für die **langfristige Geweberegeneration** nach rekonstruktiver Parodontalchirurgie von Vorteil sein.
- NovoMatrix® hat kontinuierlich eine sehr frühe Burst-Freisetzung innerhalb von Stunden gezeigt, auf die eine verlängerte zweite Phase folgte, die durch die Freisetzung hoher Mengen von TGF- $\beta$ 1, FGF-2 und PDGF-BB gekennzeichnet war, welche 70–80 % der gesamten Proteinfreisetzung während des gesamten Testzeitraums ausmachten. NovoMatrix® ist die Matrix mit der **günstigsten Freisetzungskinetik** von FGF-2 zusammen mit dem Wachstumsfaktor TGF- $\beta$ 1.
- Die geringe Gesamtmenge an BMP-2, die während des gesamten 13-Tage-Zeitraums freigesetzt wurde, in Kombination mit mehreren Zeitpunkten, zu denen eine Burst-Freisetzung beobachtet wurde, könnte für den langsamen Prozess der Hartgeweberegeneration nach einer Implantatinsertion oder parodontalen Rekonstruktion vorteilhaft sein.
- Unter den vier Matrices hat NovoMatrix® in Summe **stärkere positive Auswirkungen auf das orale Zellverhalten** gezeigt.
- Die erzielten Ergebnisse weisen NovoMatrix® **als guten Träger für rekombinanten PDGF-BB** aus.

# „Verbessertes Wundheilungspotenzial primärer humaner oraler Fibroblasten und parodontaler Ligamentzellen, die auf vier verschiedenen Kollagen-Matrices porcinen Ursprungs kultiviert wurden“

Zhikai Lin, Cristina Nica, Anton Sculean, Maria B. Asparuhova.

Enhanced Wound Healing Potential of Primary Human Oral Fibroblasts and Periodontal Ligament Cells Cultured on Four Different Porcine-Derived Collagen Matrices. *Materials*. 2020 Aug 29;13(17):3819.

## Ziel

Das Migrations-, Adhäsions-, Proliferations- und Wundheilungspotenzial parodontaler Ligamentzellen (hPDL) (Abb. 3a) und primärer humaner oraler Fibroblasten (hOF) (Abb. 3b) als Reaktion auf vier handelsübliche Kollagen-Matrices untersuchen.

## Methode und Ergebnisse

Gesundes parodontales Ligament (zur Gewinnung von hPDL) aus dem mittleren Drittel extrahierter dritter Molaren oder Gewebeproben, die aus der subepithelialen Gaumenschleimhaut (zur Gewinnung von hOF) von gesunden Probanden entnommen wurden, wurden zerkleinert. \* Die extrahierten primären Zellen wurden ausgehungert und auf den vier Kollagen-Matrices kultiviert. Die Untersuchung der Wundheilung erfolgte in Zellkulturplatten (24-Well-Platten) mit extrem geringer Anhaftung. Alle untersuchten Matrices bieten ein günstiges Umfeld, das die Migration, Adhäsion und Proliferation der getesteten Zellen fördern kann. Die Expression von Genen, die für die angiogenen Faktoren FGF-2 und VEGF-A kodieren, war in Zellen, die nur auf DADM und HADM gezüchtet worden waren, stark erhöht, was auf eine gute Grundlage für eine beschleunigte Vaskularisierung der letzteren schließen lässt.

Orale Fibroblasten und parodontale Ligamentzellen sind zwei Zelltypen, die bei der parodontalen Regeneration eine zentrale Rolle spielen.

## Zusammenfassung

- Unter den vier Matrices hat NovoMatrix® kontinuierlich stärkere positive Auswirkungen auf das orale Zellverhalten gezeigt, was auf verbesserte Fähigkeiten zur Weichgeweberegeneration hindeutet.
- Es ist wahrscheinlich, dass vor allem die poröse Struktur und die einzigartige Schichtung der Matrices zusammen mit ihren Oberflächeneigenschaften und Motiven, die an der Erkennung und Bindung von Zellen beteiligt sind, dem differentiellen Verhalten der auf den verschiedenen Matrices gewachsenen Zellen zugrunde liegen.

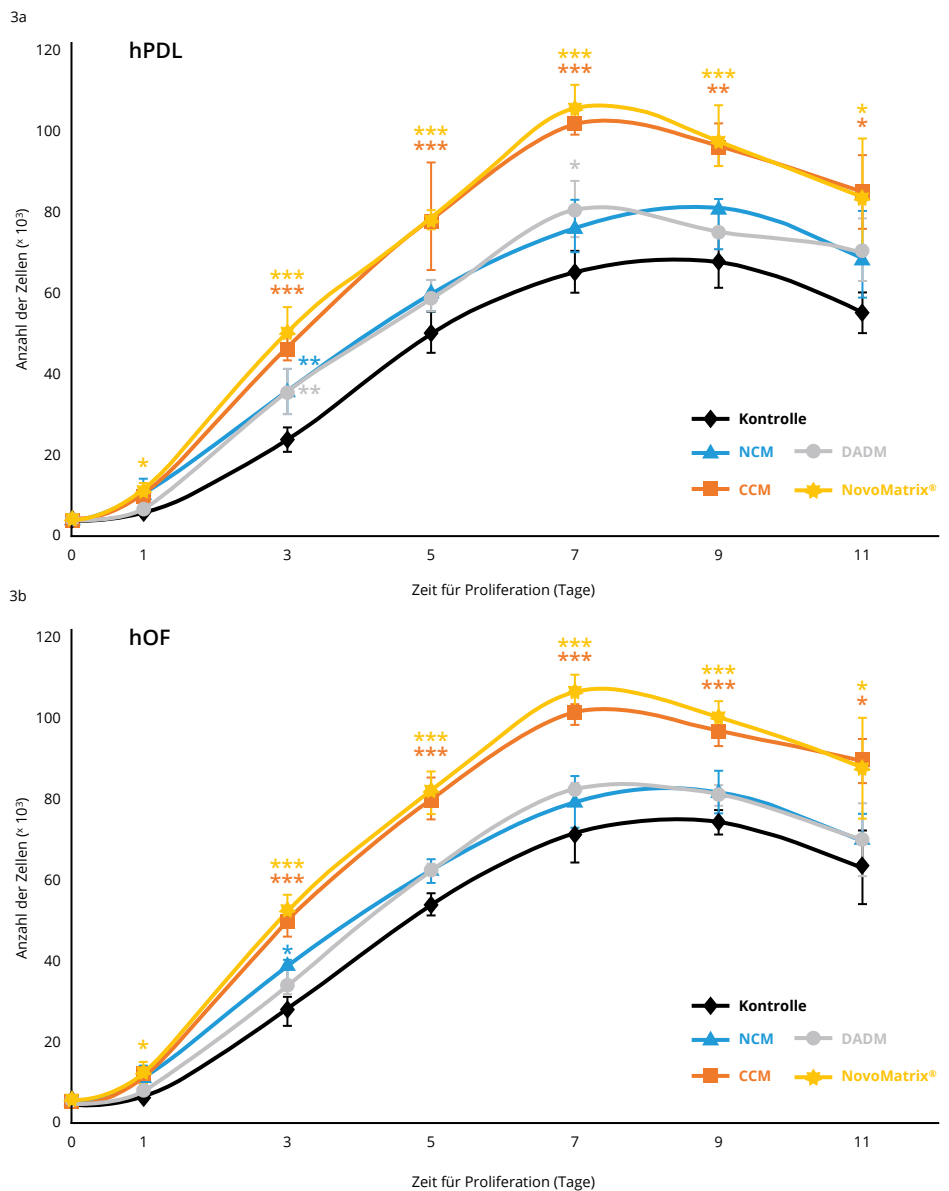


Abb. 3: Erhöhte Proliferation primärer hPDL- und hOF-Zellen, die auf den vier Matrices kultiviert wurden (\*\*\* p < 0.001, \*\* p < 0.01, \* p < 0.05).

### Fakten zu NovoMatrix® aus den Studien

- Langfristige Geweberegeneration
- Geeignet für Knochenregeneration
- Positive Auswirkungen auf das orale Zellverhalten
- Verbesserte Fähigkeit zur Weichgeweberegeneration
- Die Matrix mit der günstigsten Freisetzungskinetik

\* Ethikkommission, Bern Schweiz (BASEC-Nr. 2018-006661)

# „Positive Auswirkungen dreidimensionaler kollagenbasierter Matrices auf das Verhalten von Osteoprogenitorzellen“

Zhikai Lin, Cristina Nica, Anton Sculean, Maria B. Asparuhova.

Positive Effects of Three-Dimensional Collagen-Based Matrices on the Behavior of Osteoprogenitors.

Front Bioeng Biotechnol. 2021 Jul 21;9:708830.

## Ziel

Aktuelle Forschungsarbeiten haben gezeigt, dass verstärkte dreidimensionale (3D) Kollagen-Matrices ein stabiles Gerüst zur Rehabilitation von verlorenem Volumen bei defizitärem Alveolarknochen darstellen. In der vorliegenden Studie wurde das Migrations-, Adhäsions-, Proliferations- und Differenzierungspotenzial von mesenchymalen Stroma-ST2-Zellen und präosteoblastischen MC3T3-E1-Zellen als Reaktion auf vier verschiedene 3D-Kollagen-Matrices vergleichend untersucht (Abb. 4a–c). Getrocknete azelluläre Dermalmatrix (DADM), hydratisierte azelluläre Dermalmatrix (HADM/NovoMatrix®), nicht vernetzte Kollagenmatrix (NCM) und vernetzte Kollagenmatrix (CCM) verbesserten alle die Motilität der Osteoprogenitorzellen.

## Ergebnisse

Vergleich zu DADM und NCM lösten HADM und CCM eine stärkere Migrationsreaktion aus. Während Zellen in Kombination mit DADM und NCM vergleichbare Proliferationsraten aufwiesen wie Kontrollzellen ohne zusätzliche Anwendung von Biomaterialien, vermehrten sich Zellen auf HADM und CCM deutlich schneller. Die proliferationsfördernde Wirkung der beiden Matrices wurde durch eine erhöhte Genexpression zur Regulierung der Zellteilung unterstützt. In den Zellen dieser beiden Gerüste wurde eine erhöhte Genexpression für die adhäsiven Moleküle Fibronectin, Vinculin, CD44-Antigen und das intrazelluläre adhäsive Molekül-1 beobachtet, was auf hervorragende adhäsive Eigenschaften der untersuchten Biomaterialien schließen lässt. Im Gegensatz zu den Genen für Knochenmatrixproteine Kollagen Typ I (Col1a1) und Osteopontin (Spp1), welche in allen Arten von Matrices induziert wurden, war die Expression der osteogenen Differenzierungsmarker Runx2, Alpl, Dlx5, Ibsp, Bglap2 und Phex in Zellen auf HADM und CCM signifikant erhöht. Die kurze/klinisch relevante Vorbeschichtung der 3D-Biomaterialien mit Schmelz-Matrix-Derivat (EMD) oder rekombinatem morphogenetischem Knochenprotein-2 (rBMP-2) steigerte die osteogene Differenzierung beider Osteoprogenitor-Zelllinien auf allen Matrices signifikant, einschließlich DADM und NCM. Dies deutet darauf hin, dass die biologische Aktivität von EMD und BMP-2 auch nach Freisetzung aus den Matrices erhalten bleibt.

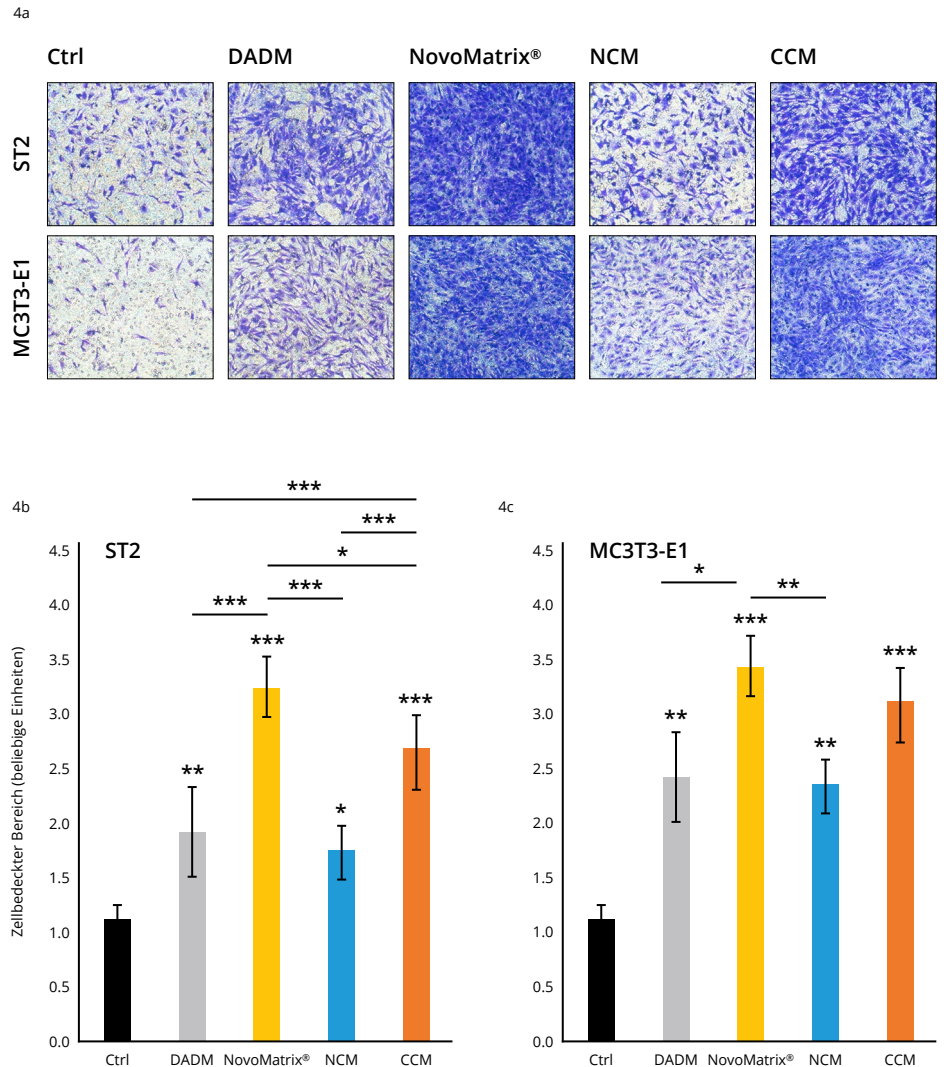


Abb. 4: Erhöhtes Migrationspotenzial von Osteoprogenitor-Zelllinien gegenüber vier verschiedenen kollagenbasierten Matrices. Migration von stromalen mesenchymalen ST2 (a, b) und präosteoblastischen MC3T3-E1-Zellen (a, c) gegenüber DADM-, HADM-, NCM- und CCM-Matrices wurde mit einem modifizierten Boyden-Kammer-Migrationsassay unter Verwendung von ThinCert® transwell PET-Membranträger mit einer Porengröße von 8 µm bewertet. (a) Repräsentative Bilder von fixierten und gefärbten Zellen, die zur Unterseite der Membran in jeder der Versuchsgruppen gewandert sind. Maßstabsbalken, 500 µm. (b, c) Quantifizierung der Zellmigration in Abwesenheit (Ctrl) oder Anwesenheit von kollagenbasierten Matrices unter Verwendung der Software Image J durch Messung der Fläche auf der Unterseite des Membranträgers, die mit migrierten Zellen bedeckt ist. Die Daten stellen Mittelwerte ± SD aus drei unabhängigen Experimenten, die mit jeder der beiden Zelllinien durchgeführt wurden. Signifikante Unterschiede zu den jeweiligen Kontrollen, sofern nicht anders angegeben (\*\*\*p < 0.001, \*\*p < 0.01, \*p < 0.05).

EMD löste die Expression aller für die Osteogenese zusammenhängenden Gene aus, während rBMP-2 die Expression früher, intermediärer und später osteogener Differenzierungs-Marker mit Ausnahme von Col1a1 und Spp1 hochregulierte.

## Zusammenfassung

Zusammengefasst unterstützen die Ergebnisse den **positiven Einfluss** von NovoMatrix® und CCM **auf die Rekrutierung, das Wachstum und die osteogene Differenzierung der Osteoprogenitor-Zelltypen**. Darüber hinaus bekräftigen die Daten, dass die Biofunktionalisierung der kollagenbasierten Matrices mit EMD oder rBMP-2 eine mögliche Behandlung bei Knochendefekten in der klinischen Praxis darstellt.

## Die Publikationen sind als Open Access verfügbar



Cristina Nica, Zhikai Lin, Anton Sculean, Maria B. Asparuhova.  
Adsorption and Release of Growth Factors from Four Different Porcine-Derived Collagen Matrices.  
Materials. 2020 Jun 9;13(11):2635.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7321618/>

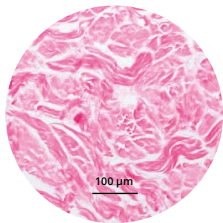


Zhikai Lin, Cristina Nica, Anton Sculean, Maria B. Asparuhova.  
Enhanced Wound Healing Potential of Primary Human Oral Fibroblasts and Periodontal  
Ligament Cells Cultured on Four Different Porcine-Derived Collagen Matrices.  
Materials. 2020 Aug 29;13(17):3819.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7504420/>

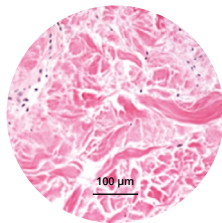


Zhikai Lin, Cristina Nica, Anton Sculean, Maria B. Asparuhova.  
Positive Effects of Three-Dimensional Collagen-Based Matrices on the Behavior of Osteoprogenitors.  
Front Bioeng Biotechnol. 2021 Jul 21;9:708830.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8334008/>

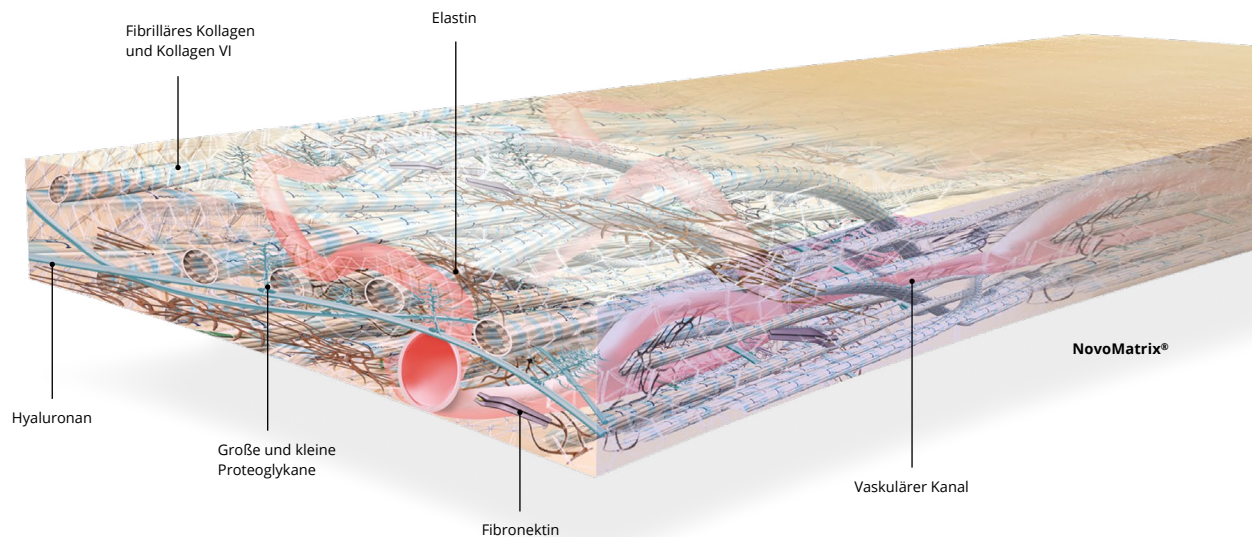
## Die Gewebestruktur der NovoMatrix® im Vergleich zur humanen Dermis



NovoMatrix®



Humane Dermis



## Headquarters

CAMLOG Biotechnologies GmbH | Margarethenstr. 38 | 4053 Basel | Schweiz  
Telefon +41 61 565 41 00 | Fax +41 61 565 41 01 | [info@camlog.com](mailto:info@camlog.com) | [www.biohorizonscamlog.com](http://www.biohorizonscamlog.com)

NovoMatrix® wird von LifeCell™ Corporation, einer Tochtergesellschaft von Allergan, hergestellt. BioHorizons® und NovoMatrix® sind eingetragene Marken von BioHorizons. ThinCert® ist eine eingetragene Marke der Greiner Bio-One GmbH. Sie sind aber unter Umständen nicht in allen Märkten eingetragen. Alle Rechte vorbehalten. Nicht alle Produkte sind in allen Ländern erhältlich.

Inspiring excellence in oral reconstruction

