

(12)

Patentschrift

(21) Anmeldenummer: A 50942/2019
(22) Anmeldetag: 04.11.2019
(45) Veröffentlicht am: 15.10.2021

(51) Int. Cl.: **A61L 27/24** (2006.01)
B30B 7/04 (2006.01)

(56) Entgegenhaltungen:
WO 2012004564 A1
EP 1773416 B1
EP 2580313 B1

(73) Patentinhaber:
3D Spine Matrix Biotechnologie GmbH
3500 Krems/Donau (AT)

(72) Erfinder:
Krabler Axel
3622 Mühldorf (AT)
Burgard Christian Dr.
66606 St. Wendel (DE)

(74) Vertreter:
Schwarz & Partner Patentanwälte OG
1010 Wien (AT)

(54) HERSTELLUNG UND VERWENDUNG VON VERDICHTETEM KOLLAGEN

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zum Herstellen von verdichtetem Kollagen umfassend die Schritte

- a) Pressen eines gelierten Kollagens in einer ersten Pressrichtung und
- b) Pressen des gelierten Kollagens aus Schritt a) in einer zur ersten Pressrichtung im Wesentlichen orthogonalen zweiten Pressrichtung,

wobei das Pressen in Schritt a) bei einem Druck im Bereich von 0,01 bis 0,05 bar und in Schritt b) bei einem Druck im Bereich von 0,5 bar bis 2 bar durchgeführt wird.

Beschreibung

HERSTELLUNG UND VERWENDUNG VON VERDICHTETEM KOLLAGEN

TECHNISCHES GEBIET

[0001] Die Erfindung betrifft verdichtetes geliertes Kollagen, welches u.a. als Implantat zur operativen Behandlung eines Bandscheibenvorfalles eingesetzt werden kann.

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0002] Die Abnutzung der Gelenke bei Tieren, insbesondere Säugetieren, und Menschen ist ein weit verbreitetes Problem. Die Ursachen für diese Abnutzung können vielschichtig sein und auf verstärkte Belastung bzw. Überanstrengung, wie etwa durch Übergewicht oder eine falsche Körperhaltung, pathologische Ursachen, geringe körperliche Bewegung oder Altern zurückzuführen sein. In vielen Fällen führt die durch obige Ursachen hervorgerufene Schädigung von Knorpelgewebe, das in den Gelenken als Stoßdämpfer dient, zu einer erhöhten Abnutzung der Gelenke. Folgen der Abnutzung der Gelenke sind u.a. Schmerzen, die auch in andere Körperregionen ausstrahlen können, und eine Einschränkung der Beweglichkeit. Eine Möglichkeit der Behandlung von abgenutzten Gelenken ist eine Operation, einhergehend mit einem Gelenkersatz (d.h. Endoprothese) oder einer Knorpeltransplantation bzw. Chondrozyten Implantation.

[0003] Ein Krankheitsbild, bei dem Knorpelgewebe eine entscheidende Rolle spielt, ist der Bandscheibenvorfall. Bandscheiben sind druckelastische Zwischenwirbelscheiben, welche zwischen den Wirbelkörpern der Hals-, Brust- und Lendenwirbelsäule lokalisiert sind. Die Bandscheibe ist verformbar und weist eine begrenzte Kompressibilität und Dehnbarkeit auf. Aufgrund dieser Eigenschaften nimmt sie an den Bewegungen der Wirbelsäule teil. Die Bandscheibe und die Wirbelgelenke bilden eine funktionelle Einheit, die auch bei starker mechanischer Belastung elastisch reagieren.

[0004] Bandscheiben bestehen im Inneren aus einem Gallertkern (Nucleus pulposus). Dieses zellarme Gewebe besteht etwa zu 80 % aus Wasser und außerdem aus Fibroblasten und Typ-2 Kollagen. Das Fasernknorpelgewebe (Anulus fibrosus) umschließt den Nucleus pulposus. An der oberen und unteren Grenzfläche der Bandscheibe zu den Knochen der Wirbelkörper befinden sich hyaline Knorpel.

[0005] Durch degenerative Prozesse entstehen mit steigendem Alter Risse in der Bandscheibe. Nach anschließender Druckbelastung, wie etwa durch eine ruckartige Verdrehung der Wirbelsäule, kommt es zum Durchtreten des Nucleus pulposus durch den Anulus fibrosus, was typischerweise mit plötzlichen Schmerzen einhergeht. Dieser pathologische Ablauf wird als Bandscheibenvorfall bezeichnet.

[0006] Durch das ausgetretene Nucleus pulposus-Material kann es zu Nervenreizungen und/oder -quetschungen kommen, welche zu Schmerzen, auch insbesondere ausstrahlend in die Beine oder Arme, oder auch zu Gefühlsstörungen und Kraftminderung führt.

[0007] Aktuelle Behandlungsmöglichkeiten beseitigen in der Regel nur die Schmerzen, ohne jedoch die Ursache selbst zu beheben. Bandscheibenvorfälle werden sowohl nicht-operativ, wie etwa durch Krankengymnastik oder die Einnahme von Schmerzmitteln, als auch operativ, wie etwa mittels Nukleotomie, bei der der hervorgetretene Teil der Bandscheibe entfernt wird, behandelt. Im Anschluss einer Nukleotomie, beispielsweise, kann ein Ersatzmaterial implantiert werden.

[0008] In der WO 2012/004564 wird u.a. ein Verfahren zur Herstellung eines Biomaterials, welches durch die Verdichtung von Kollagen erhalten wird, beschrieben.

[0009] In der Patentanmeldung DE 100 26 789 A1 wird eine Biomatrix als Knorpelersatz offenbart, welche mindestens 1,5 mg/mL nicht verdichtetes Kollagen enthält. Eine unverdichtete Kollagen-Biomatrix ist aufgrund der geringeren Festigkeit im Allgemeinen nicht als Ersatz für mechanisch stark belastetes Kollagen, wie z.B. den Nucleus pulposus, geeignet.

[0010] Beispiele für eine Biomatrix, die unter anderem als Ersatzmaterial für Nucleus pulposus-Material verwendet werden könnte, ist in der Patentanmeldung DE 102 41 817 A1 offenbart. Die darin beschriebene Biomatrix nutzt vorzugsweise gelierte Kollagenfasern, welche anschließend verdichtet werden, wodurch eine Kollagenendkonzentration von bis zu 1000 mg/mL möglich ist. Die Verdichtung erfolgt beispielsweise durch Druck, welcher eindimensional ausgeübt wird.

[0011] Die eindimensionale Verdichtung, wie in der DE 102 41 817 A1 offenbart, führt zu einer höheren Festigkeit in Verdichtungsrichtung im Vergleich zu der nicht verdichteten Richtung. Dieses eindimensional verdichtete Material gewährleistet jedoch keine ausreichende Festigkeit für dessen Einsatz als Ersatz für den Nucleus pulposus, beispielsweise.

[0012] Daher ist es eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung eine Biomatrix umfassend verdichtetes Kollagen bereitzustellen, das eine hohe Dichte und somit eine hohe Festigkeit aufweist, um u.a. als Ersatz für den Nucleus pulposus eingesetzt zu werden.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0013] Es wurde überraschenderweise festgestellt, dass verdichtetes geliertes Kollagen, welches zumindest zweidimensional gepresst wurde, eine höhere Festigkeit aufweist, als geliertes Kollagen, welches nur eindimensional oder nicht gepresst wurde. Daher betrifft ein erster Aspekt der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zum Herstellen von verdichtetem Kollagen umfassend die Schritte

- a) Pressen eines gelierten Kollagens in einer ersten Pressrichtung und
- b) Pressen des gelierten Kollagens aus Schritt a) in einer zur ersten Pressrichtung im Wesentlichen orthogonalen zweiten Pressrichtung,

wobei das Pressen in Schritt a) bei einem Druck im Bereich von 0,01 bis 0,05 bar und in Schritt b) bei einem Druck im Bereich von 0,5 bar bis 2 bar durchgeführt wird.

[0014] Im erfindungsgemäßen Verfahren wird geliertes Kollagen zunächst in einer Richtung gepresst. Anschließend erfolgt ein zweiter Schritt, in dem das eindimensional verdichtete Kollagen aus dem ersten Verfahrensschritt in einer zur ersten Pressrichtung im Wesentlichen orthogonalen zweiten Pressrichtung weiter gepresst wird. Durch diesen zweiten Schritt kann eine verdichtete Kollagenmatrix erzeugt werden, die eine ausreichende Festigkeit aufweist, um u.a. als Nucleus pulposus-Ersatz eingesetzt zu werden. Vergleichbare Festigkeiten oder Kollagendichten können mit herkömmlichen Verfahren (siehe z.B. DE 102 41 817 A1) nicht erzielt werden.

[0015] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein kollagenhaltiges Produkt umfassend verdichtetes Kollagen erhältlich nach einem Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung.

[0016] Das verdichtete Kollagen, welches durch das erfindungsgemäße Verfahren hergestellt werden kann, kann Teil eines kollagenhaltigen Produkts sein, welches für verschiedenste Zwecke eingesetzt wird.

[0017] Ein noch weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein Implantat umfassend ein kollagenhaltiges Produkt gemäß der vorliegenden Erfindung bzw. verdichtetes Kollagen erhältlich nach einem Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung.

[0018] Kollagen, insbesondere verdichtetes Kollagen, kann u.a. als Knorpelersatz eingesetzt werden. Da sich Knorpel vor allem durch seine Festigkeit bei gleichzeitiger Flexibilität auszeichnet, ist es entscheidend, dass ein Knorpelersatz vergleichbare Eigenschaften insbesondere auch hinsichtlich dessen Biokompatibilität aufweist, wie körpereigener Knorpel. Diese Eigenschaften können dadurch erzielt werden, in dem geliertes Kollagen zumindest zweidimensional gepresst wird. Daher eignet sich ein kollagenhaltiges Produkt, welches erfindungsgemäß verdichtetes Kollagen umfasst, besonders zum Einsatz als Implantat.

[0019] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Ausführung des erfindungsgemäßen Verfahrens, umfassend:

- ein Behältnis, umfassend einen von einem Boden und zumindest einer Wand begrenzten Innenraum, wobei das Behältnis dazu ausgebildet ist ein geliertes wasserhaltiges Kol-

lagen im Innenraum aufzunehmen und

- einen den Innenraum des Behältnisses abschließenden in eine, in Richtung des Bodes verlaufende, erste Pressrichtung verschiebbaren Kolben,

dadurch gekennzeichnet, dass die zumindest eine Wand Segmente umfasst, wobei zumindest eines dieser Segmente in eine, im Wesentlichen orthogonal auf die erste Pressrichtung orientierte, zweite Pressrichtung verschiebbar ist.

[0020] Ein noch weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft eine Verwendung der erfindungsgemäßen Vorrichtung in dem erfindungsgemäßen Verfahren.

KURZBESCHREIBUNG DER FIGUREN

[0021] Fig. 1 zeigt die Ergebnisse der Bestimmung der Flexibilität bei der Anwendung des erfindungsgemäßen Implantats in einem Abschnitt der menschlichen Wirbelsäule.

[0022] Fig. 2 zeigt die Ergebnisse der Bestimmung des Druckes innerhalb der Bandscheibe bei der Anwendung des erfindungsgemäßen Implantats in einem Abschnitt der menschlichen Wirbelsäule.

[0023] Fig. 3 zeigt die Ergebnisse der Bestimmung der Bandscheibenhöhe bei der Anwendung des erfindungsgemäßen Implantats in einem Abschnitt der menschlichen Wirbelsäule.

[0024] Fig. 4 zeigt die Ergebnisse der Bestimmung der Widerstandsfähigkeit gegen einen erneuten Prolaps bei der Anwendung des erfindungsgemäßen Implantats in einem Abschnitt der menschlichen Wirbelsäule.

[0025] Fig. 5 zeigt eine Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung.

BESCHREIBUNG DER AUSFÜHRUNGSFORMEN

[0026] Im erfindungsgemäßen Verfahren wird geliertes Kollagen zunächst in einer ersten Pressrichtung und anschließend in einer zweiten Pressrichtung gepresst. Die Pressung in die erste und/oder zweite Pressrichtung erfolgt zumindest je einmal. Ausgangsmaterial für dieses Verfahren ist geliertes Kollagen.

[0027] Geliertes Kollagen kann durch Gelieren von gelösten Kollagen hergestellt werden. Als Quelle von gelösten Kollagen können Knorpel, Sehnen, Bänder und Knochen dienen, wobei Knorpel die am meisten bevorzugte Quelle darstellt. Die Knorpel, Sehnen, Bänder und Knochen stammen bevorzugt von Säugetieren wie z.B. Rinder, Schweine, Schafe und Ratten und werden nach im Stand der Technik bekannten Verfahren (z.B. DE 100 26 789) gewonnen. Die Verwendung bestimmter Verfahren zur Gewinnung von Kollagen, wie z.B. jenes der DE 100 26 789, haben den Vorteil, dass das Kollagen im Anschluss an dessen Gewinnung nicht weiterverarbeitet werden muss, um in einem Säugetier bzw. Menschen angewendet zu werden.

[0028] Neben Kollagen aus Säugetieren, eignen sich auch Quallen und Pflanzen als weitere Quellen für Kollagen.

[0029] „Verdichtetes Kollagen“, wie hier verwendet, bezieht sich auf geliertes Kollagen, welches durch zumindest zwei Pressvorgänge eine höhere Dichte aufweist, als nicht verpresstes Kollagen. Verpresstes bzw. verdichtetes Kollagen weist vorzugsweise eine mindestens 10-fache, vorzugsweise eine mindestens 20-fache, noch mehr bevorzugt eine mindestens 40-fache Verdichtung (beispielsweise von 6 mg/ml auf 240 mg/ml), noch mehr bevorzugt eine mindestens 80-fache Verdichtung, gegenüber dem Ausgangsmaterial (unverdichtetes Kollagen) auf.

[0030] „Eine zu einer ersten Pressrichtung im Wesentlichen orthogonale zweite Pressrichtung“, wie hier verwendet, bedeutet, dass im erfindungsgemäßen Verfahren zumindest ein Pressschritt vorgesehen ist, der eine Pressrichtung 9 aufweist, die im Wesentlichen orthogonal zu einer ersten Pressrichtung 6 ist.

[0031] „Pressrichtung“, wie hier verwendet, ist die Richtung in die der Druck auf das gelierte Kol-

lagen ausgeübt wird.

[0032] Das Pressen des gelierten Kollagens in Schritt a) in einer ersten Richtung und/oder das Pressen in Schritt b) in einer zweiten Richtung, welche im Wesentlichen orthogonal zur ersten Pressrichtung ist, kann unter Berücksichtigung verschiedener Parameter, die ausgewählt sind aus einer Gruppe bestehend aus Druck, Dauer, Temperatur und Endmaß, erfolgen, wobei vorzugsweise die Parameter Druck, Dauer und Temperatur variiert werden können, um das erfindungsgemäße verdichtete Kollagen herzustellen.

[0033] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform wird das Pressen in Schritt a) bei einem Druck im Bereich von 0,012 bis 0,03 bar, vorzugsweise im Bereich von 0,015 bis 0,025 bar, besonders bevorzugt bei 0,01833 bar, und/oder in Schritt b) bei einem Druck im Bereich von 1 bis 1,5 bar, vorzugsweise bei 1,01551 bar, durchgeführt. In diesen Druckangaben ist der Luftdruck nicht enthalten. D.h. der tatsächlich auf das zu verdichtende Kollagen aufgebrachte Druck ist die Summe der oben erwähnten Drücke bzw. Druckbereiche und dem vorherrschenden Luftdruck (z.B. auf Meereshöhe 1,01325 bar).

[0034] Es hat sich gezeigt, dass es bei Anwendung eines Drucks in dem genannten Bereich auf Kollagen zu einer schonenden und gleichzeitig gleichmäßigen Verdichtung des Kollagens führt. Der auf das Kollagen aufgebrachte Druck wird vorzugsweise auf das gesamte zu verdichtende Kollagen im Wesentlichen gleichmäßig verteilt aufgebracht.

[0035] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt das Pressen in Schritt a) und/oder Schritt b) durch einen linear oder stufenförmig steigenden Druck.

[0036] Der Druck, der beim Pressen auf das Kollagen ausgeübt wird, kann entweder konstant sein (d.h. ein definierter Druck während der Schritte a) und b)) oder über die Zeit ansteigen. Die Steigerung des Drucks auf das Kollagen kann dabei linear oder stufenförmig erfolgen. Selbstverständlich ist es auch möglich zunächst einen steigenden Druck gefolgt von einem konstanten Druck oder umgekehrt auf das zu verdichtende Kollagen anzulegen. Bei einem steigenden Druck liegt der Endpunkt (d.h. der maximal zu erreichende Druck) in den oben genannten Bereich.

[0037] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform wird Schritt a) für 1 bis 48 Stunden, vorzugsweise für 6 bis 24 Stunden, noch mehr bevorzugt für 8 Stunden bis 18 Stunden, noch mehr bevorzugt für 10 Stunden bis 14 Stunden, insbesondere für 12 Stunden, und/oder Schritt b) für 6 bis 96 Stunden, vorzugsweise für 12 bis 72 Stunden, noch mehr bevorzugt für 24 bis 66 Stunden, noch mehr bevorzugt für 30 bis 60 Stunden, noch mehr bevorzugt für 36 bis 54 Stunden, noch mehr bevorzugt für 42 Stunden bis 52 Stunden, noch mehr bevorzugt für 46 Stunden bis 50 Stunden, insbesondere für 48 Stunden, durchgeführt.

[0038] Aufgrund der bevorzugten Pressdrücke, die im erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzt werden, wird der Druck vorzugsweise über einen längeren Zeitraum angelegt, insbesondere um einerseits die maximal mögliche und andererseits eine konstante Kompression im komprimierten Kollagenkörper zu erreichen.

[0039] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt Schritt a) und/oder Schritt b) bei einer Temperatur von 0°C bis 20°C, vorzugsweise von 0°C bis 15°C, noch mehr bevorzugt von 0°C bis 10°C, noch mehr bevorzugt von 1°C bis 9°C, noch mehr bevorzugt von 2°C bis 8°C, insbesondere von 4°C bis 6°C.

[0040] Das mit dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellte gepresste Kollagen kann unterschiedliche Maße aufweisen, abhängig vom späteren Einsatzgebiet. Für bestimmte Anwendungen (z.B. als Ersatz für Discus intervertebralis) entsteht gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung bei Schritt a) und/oder Schritt b) des erfindungsgemäßen Verfahrens ein Endmaß des gepressten gelierten Kollagens von 1,5 bis 5 mm, vorzugsweise von 2 bis 4 mm, noch mehr bevorzugt von 2,4 mm bis 3,0 mm, noch mehr bevorzugt von 2,6 mm bis 2,8 mm, insbesondere von 2,7 mm Kantenlänge.

[0041] Das für das zweidimensional gepresste gelierte Kollagen eingesetzte gelierte Kollagen kann gemäß einer bevorzugten Ausführungsform durch Gelieren einer Kollagen-haltigen Lösung

durch Zugabe eines pH erhöhenden Mittels bereitgestellt werden. Die Kollagen-haltige Lösung umfasst vorzugsweise 1 bis 20 mg, noch mehr bevorzugt 1 bis 10 mg, noch mehr bevorzugt 2 mg bis 8 mg, noch mehr bevorzugt 4 mg bis 6 mg, insbesondere 5,5 mg bis 6,5 mg, gelöstes Kollagen pro mL Lösung.

[0042] Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird die Kollagen-haltige Lösung durch Lösen von Kollagen in einer ersten wässrigen Lösung umfassend 0,01 bis 1%, vorzugsweise 0,05 bis 0,5%, vorzugsweise 0,01 bis 0,2%, insbesondere 0,1%, einer organischen Säure mit einem pK_s -Wert von vorzugsweise 4,5 bis 5, noch mehr bevorzugt von 4,6 bis 4,9, insbesondere von 4,7 bis 4,8, hergestellt, wobei die organische Säure vorzugsweise Essigsäure ist. Verfahren zur Herstellung der Kollagen-haltigen Lösung sind dem Fachmann hinreichend bekannt.

[0043] Wie bereits eingangs erwähnt, können als Quelle von gelösten Kollagen Knorpel, Sehnen, Bänder und Knochen dienen. Besonders bevorzugt wird das gelöste Kollagen aus Sehnen von Rattenschwänzen isoliert, wobei vorzugsweise das in der DE 100 26 789 beschriebene Verfahren zu dessen Isolation verwendet wird.

[0044] Gemäß einer bevorzugteren Ausführungsform ist das gelöste Kollagen vom Kollagen Typ 1. Dieser Kollagentyp ist faserbildend und kommt in Haut, Sehnen, Knochen, Dentin, Faserknorpel und der Kornea vor.

[0045] Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform weist das gelöste Kollagen eine Reinheit von größer als 90 %, vorzugsweise von größer als 95 %, noch mehr bevorzugt von größer als 99 %, insbesondere von größer als 99,8 % auf.

[0046] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung kann das Gelieren des gelösten Kollagens durch Zugabe eines pH erhöhenden Mittels erfolgen. Der Geliervorgang findet vorzugsweise über einem Zeitraum von 30 Minuten bis 10 Stunden, vorzugsweise von 45 Minuten bis 5 Stunden, noch mehr bevorzugt von 1 bis 4 Stunden, noch mehr bevorzugt von 2 bis 3 Stunden, am meisten bevorzugt für ca. 2,5 Stunden statt. Besonders vorteilhaft ist das Gelieren des Kollagens bei einer Temperatur im Bereich von 15°C bis 50°C, vorzugsweise von 20°C bis 45°C, noch mehr bevorzugt von 25°C bis 40°C, noch mehr bevorzugt von 30°C bis 39°C, am meisten bevorzugt bei ca. 34 °C. Während des Geliervorgangs kann die Lösung zwecks verbesserter Durchmischung kontinuierlich oder unregelmäßig gerührt bzw. vermischt werden. Entscheidend bei diesem Vorgang ist, dass das Durchmischen in einer Weise erfolgt, dass die Struktur des gelierten Kollagens nicht zerstört wird.

[0047] Gemäß einer weiteren bevorzugteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird das pH erhöhende Mittel in einem Verhältnis zum Kollagen in der Kollagen-haltigen Lösung von 0,1:2 (v/v), vorzugsweise von 0,5:1,5 (v/v), noch mehr bevorzugt von 0,8:1,2 (v/v), am meisten bevorzugt von 1:1 (v/v) zugegeben.

[0048] Gemäß einer noch bevorzugteren Ausführungsform wird das pH erhöhende Mittel in einer Menge der Kollagen-haltigen Lösung zugegeben, dass sich der pH Wert der sich ergebenden Kollagen-haltigen Lösung auf 7,0 bis 9,0, vorzugsweise auf 7,0 bis 8,0, noch mehr bevorzugt auf 7,1 bis 7,8, noch mehr bevorzugt auf 7,3 bis 7,5, erhöht. Das pH erhöhende Mittel wird vorzugsweise in einer Menge der Kollagen-haltigen Lösung zugegeben, dass die Lösung in der Kollagen geliert einen pH Wert von 7,0 bis 7,4 aufweist.

[0049] Gemäß einer weiteren bevorzugteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das pH erhöhende Mittel eine Puffersubstanz, vorzugsweise 2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure (HEPES).

[0050] Das pH erhöhende Mittel kann entweder in Wasser gelöst oder direkt (auch als Festsubstanz) dem gelösten Kollagen zugesetzt werden.

[0051] Gemäß einer noch bevorzugten Ausführungsform ist das pH erhöhenden Mittel Teil einer wässrigen Zusammensetzung umfassend vorzugsweise mindestens eine Komponente ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Ham's F12 Medium, Natriumhydrogencarbonat und D-Glu-

cose.

[0052] In einer bevorzugten Ausführungsform wird das verdichtete Kollagen im Anschluss an Schritt a) und b) in ein Aufnahmegefäß überführt, welches eine PBS Lösung enthält.

[0053] Vorzugsweise ist die Form des Aufnahmegefäßes nicht eckig, sondern im Wesentlichen ellipsenförmig, im Wesentlichen rund oder kreisrund.

[0054] Das Überführen in das Aufnahmegefäß dient bevorzugt der Anpassung der Außenform des verdichteten Kollagens an den Querschnitt des Aufnahmegefäßes durch den Übergang von einem im Wesentlichen eckigen Querschnitt auf einen im Wesentlichen nicht eckigen, bevorzugter im Wesentlichen ellipsenförmigen, noch bevorzugter im Wesentlichen runden, am bevorzugtesten im Wesentlichen kreisrunden Querschnitt. Dies geschieht bevorzugt durch Aufquellen des Kollagens, noch bevorzugter durch Wasseraufnahme.

[0055] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein kollagenhaltiges Produkt, welches das erfindungsgemäße verdichtete Kollagen umfasst, und welches durch das erfindungsgemäße Verfahren erhältlich ist.

[0056] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform weist das Produkt, welches mit dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt werden kann, eine opake bis gelbliche Farbe auf.

[0057] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform weist das Produkt eine dreidimensionale Form auf, welche bevorzugt im Wesentlichen zylinderförmig ist. Diese zylinderförmige dreidimensionale Form ist bevorzugt dadurch gekennzeichnet, dass sie eine im Wesentlichen nicht eckige, bevorzugter im Wesentlichen ellipsenförmige, noch bevorzugter im Wesentlichen runde, am bevorzugtesten im Wesentlichen kreisrunde Grundfläche umfasst mit einem Durchmesser von 2 mm bis 5 mm, vorzugsweise von 2,7 mm bis 4,5 mm, noch mehr bevorzugt von 3,2 mm bis 3,8 mm, insbesondere von ca. 3,5 mm.

[0058] Das erfindungsgemäße Produkt weist vorzugsweise viskoelastische und/oder osmotische Eigenschaften (bevorzugt vergleichbar mit jenen eines nativen Nucleus pulposus Materials) auf, ist mechanisch stabil und/oder hochkomprimiert (vorzugsweise bis zu oder mehr als 240 mg/ml).

[0059] Das erfindungsgemäß hergestellte komprimierte Kollagen weist zudem die Eigenschaften eines Hydrogels auf.

[0060] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein Implantat, welches das erfindungsgemäße kollagenhaltige Produkt umfasst.

[0061] Das erfindungsgemäße Implantat kann für verschiedenste Zwecke eingesetzt werden. Das erfindungsgemäße Implantat kann als Nucleus pulposus-Ersatz, Meniskusersatz, Bänderersatz und/oder Sehnenersatz verwendet werden, wobei es sich besonders gut als Nucleus pulposus-Ersatz, zur Behandlung von Meniskusverletzungen (z.B. Meniskusriss) und Bänderverletzungen (Karpalband, gelbes Band, Leistenband, Kniescheibenband, vorderes Kreuzband, hinteres Kreuzband) eignet. Je nach Einsatzgebiet kann das erfindungsgemäße kollagenhaltige Produkt zu einem geeigneten Implantat geformt und implantiert werden.

[0062] Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist das Implantat ein Langzeitimplantat, welches dadurch gekennzeichnet ist, dass bevorzugt Zellen, noch bevorzugter Zellen der Bandscheibe, einwandern können. Durch das Einwandern der Zellen kann das erfindungsgemäße Implantat, im Falle eines Bandscheibenimplantats, zu einem Nucleus pulposus ähnlichem Gewebe werden.

[0063] Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform kann das Implantat mittels einer Operation implantiert werden. Diese Operation kann an Tieren, insbesondere Säugetieren, und Menschen durchgeführt werden.

[0064] Im Rahmen der Operation kann das erfindungsgemäße Implantat mittels eines Hilfsmittels aus dem Aufnahmegefäß an den Zielort, welcher sich bevorzugt innerhalb des Anulus fibrosus befindet, verlagert werden. Das erfindungsgemäße Implantat eignet sich aufgrund seiner Eigenschaften bevorzugt als Ersatz von Nucleus pulposus Material.

[0065] Gemäß einer bevorzugteren Ausführungsform wird die Operation mittels minimalinvasiver Operationstechnik durchgeführt.

[0066] Die Operation wird bevorzugt als Behandlung eines Bandscheibenvorfalles, welcher bevorzugt mit Schmerzen, bevorzugter mit Rücken- und/oder Beinschmerzen einhergeht, durchgeführt.

[0067] Die Menge des erfindungsgemäßen Implantats wird bevorzugt nach der Höhe der benachbarten Bandscheibe bestimmt und/oder an seinem Zielort eingepresst.

[0068] Die Operation findet bevorzugt im Anschluss an eine Nukleotomie statt und/oder wird bevorzugt durch den Verschluss des Anulus fibrosus abgeschlossen.

[0069] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform umfasst das kollagenhaltige Produkt oder das Implantat verdichtetes Kollagen mit einer Dichte von größer 150 mg/mL, bevorzugter größer 200 mg/mL, am bevorzugtesten größer 240 mg/mL.

[0070] Bevorzugt wird das kollagenhaltige Produkt und/oder das Implantat mit der oben genannten Dichte durch des erfindungsgemäße Verfahren hergestellt.

[0071] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft eine Vorrichtung 1 zur Ausführung des erfindungsgemäßen Verfahrens, umfassend:

- ein Behältnis 2, umfassend einen von einem Boden 3 und zumindest einer Wand 4 begrenzten Innenraum 5, wobei das Behältnis 2 dazu ausgebildet ist ein geliertes wasserhaltiges Kollagen im Innenraum 5 aufzunehmen und
- einen den Innenraum 5 des Behältnisses 2 abschließenden in eine, in Richtung des Bodens verlaufende, erste Pressrichtung 6 verschiebbaren Kolben 7,

wobei die zumindest eine Wand 4 Segmente umfasst, wobei zumindest eines dieser Segmente 8 in eine, im Wesentlichen orthogonal auf die erste Pressrichtung 6 orientierte, zweite Pressrichtung 9 verschiebbar ist.

[0072] Das Behältnis 2 umfasst vorzugsweise ein sterilisierbares zellkultur-geeignetem Material, bevorzugt Polytetraflon® HS 11097, oder ist an der Oberfläche, die mit dem Kollagen in Kontakt gebracht wird, mit diesem zellkultur-geeignetem Material zumindest teilweise beschichtet.

[0073] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung weist der Boden 3, die zumindest eine Wand 4 und/oder der Kolben 7 zumindest eine in den Innenraum 5 einmündende Öffnung 10 zum Entfernen von Wasser aus dem Innenraum 5 des Behältnisses 2 auf.

[0074] Diese zumindest eine Öffnung 10 ist vorzugsweise so gestaltet, dass geliertes Kollagen im Zuge eines Pressvorgangs nicht durch diese zumindest eine Öffnung 10 gepresst werden kann. Daher weist die zumindest eine Öffnung 10 bevorzugt eine Größe von 50 µm bis 500 µm, vorzugsweise von 100 bis 300 µm, noch mehr bevorzugt von 120 bis 250 µm, noch mehr bevorzugt von 130 bis 200 µm, insbesondere von 160 µm, auf.

[0075] Der Boden 3, die zumindest eine Wand 4 und/oder der Kolben 7 können auch ein ausreichend mechanisch stabiles Material umfassen bzw. aus diesem bestehen, welches porös, vorzugsweise über den gesamten Bereich, der mit dem Kollagen bei sachgemäßer Anwendung in Kontakt steht, und wasserdurchlässig sein kann. Die Verwendung von porösen und wasserdurchlässigen Materialien ist insbesondere von Vorteil, da dieses ohne Einfügung von gesonderten Öffnungen (z.B. durch Bohrungen) herstellbar ist. Die Poren eines porösen Materials entsprechen den Öffnungen 10 wie hierin definiert.

[0076] Besonders geeignet sind poröse Kunststoffe, die sich aus Granulaten zusammensetzen, welche im Sinterprozess miteinander verbunden werden. Dadurch entstehen Hohlräume (Poren) die bewirken, dass Gase und vor allem Flüssigkeiten wie Wasser die Teile durchströmen können. Poröse Kunststoffprodukte, wie in der erfindungsgemäßen Vorrichtung einsetzbar, können aus diversen thermoplastischen Materialien hergestellt werden, wobei ultrahochmolekulares Polyethylen (UHMWPE), hochdichtes Polyethylen (HDPE), Polypropylen (PP), Polytetrafluoroethylen (PTFE), Polyvinylidenfluorid (PVDF), Polyethersulfon (PES) und PE/PP Copolymer besonders bevorzugt verwendet werden. Die Porengröße wird so bemessen, dass Wasser das Material

durchdringen kann, jedoch nicht das kollagenhaltige Material.

[0077] Der Begriff „Wasser“, wie hier verwendet, kann weitere Substanzen und Salze, die im zu komprimierenden Ausgangsmaterial enthalten sind, umfassen. In diesem Zusammenhang kann „Wasser“ mit „wässriger Lösung“ gleichgesetzt werden.

[0078] Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die zumindest eine Öffnung 10 zum Entfernen von Wasser aus dem Innenraum 5 des Behältnisses 2 mit zumindest einem weiteren Behältnis 11 zur Wasseraufnahme verbunden sind.

[0079] Um das bei der Kompression des kollagenhaltigen Materials anfallende Kompressionswasser abzuführen, weist die erfindungsgemäße Vorrichtung ein zusätzliches Behältnis 11 zur Wasseraufnahme auf. Dadurch wird verhindert, dass Wasser aus der Vorrichtung direkt in die Umgebung austritt. Nach Abschluss des Kompressionsverfahrens kann das Wasser aus dem Behältnis 11 entfernt werden.

[0080] Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst die Vorrichtung 1 zumindest ein Arretierungsmittel 12, welches dazu ausgebildet ist den in die erste Pressrichtung 6 verschiebbaren Kolben 7 und/oder das in die zweite Pressrichtung 9 verschiebbare Segment 8 in einer Endposition der ersten 6 und/oder zweiten Pressrichtung 9 am Behältnis 2 zu arretieren.

[0081] Eine Arretierung ist besonders vorteilhaft, da diese ermöglicht den in die erste Pressrichtung 6 verschiebbaren Kolben 7 und/oder das in die zweite Pressrichtung 9 verschiebbare Segment 8 in einer Position zu fixieren. Sollte nach dem Kompressionsvorgang der Druck auf das zu komprimierende Kollagen reduziert bzw. zur Gänze entfernt werden, kann durch eine Arretierung die Form des komprimierten Kollagens beibehalten werden. Zudem ermöglicht die Arretierung, dass das Kollagen in einer zweiten Richtung komprimiert wird. Dadurch ist es möglich die Kompression des Kollagens in beiden Kompressionsrichtungen in einer einzigen Vorrichtung zu ermöglichen ohne eine zweite Vorrichtung zu verwenden.

[0082] Die Arretierung des zumindest einen Arretierungsmittels 12 ist bevorzugt lösbar.

[0083] Das zumindest eine Arretierungsmittel 12 ist vorzugsweise eine Schraubverbindung (z.B. Schraube, Mutter), ein Nagel, ein Stift oder eine Klemme.

[0084] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft eine Verwendung der erfindungsgemäßen Vorrichtung 1 in dem erfindungsgemäßen Verfahren.

[0085] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden die Schritte a) und/oder b) in dem Behältnis 2 der erfindungsgemäßen Vorrichtung 1 durchgeführt.

[0086] Da Wasser nicht komprimierbar ist, ist es beim Pressen des gelierten Kollagens von Vorteil, wenn das Behältnis 2, in dem das gelierte Kollagen verpresst wird, zumindest teilweise wasserdurchlässig gestaltet ist.

[0087] Der Boden 3, die zumindest eine Wand 4 und/oder der Kolben 7 weisen vorzugsweise zumindest eine in den Innenraum 5 einmündende Öffnung 10 zum Entfernen von Wasser aus dem Innenraum 5 des Behältnisses 2 auf. Diese Öffnungen 10 sind vorzugsweise so gestaltet, dass geliertes Kollagen im Zuge eines Pressvorgangs nicht durch diese Öffnungen 10 gepresst wird. Daher weisen die Wände bzw. Begrenzungen Öffnungen 10 in einer Größe von 50 µm bis 500 µm, vorzugsweise von 100 bis 300 µm, noch mehr bevorzugt von 120 bis 250 µm, noch mehr bevorzugt von 130 bis 200 µm, insbesondere von 160 µm, auf.

[0088] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird das Gelieren des gelösten Kollagens im selben Behältnis 2 durchgeführt wie das Pressen des gelierten Kollagens. Dieses Behältnis 2 besteht vorzugsweise aus einem sterilisierbaren zellkultur-geeignetem Material, bevorzugt Polytetraflon® HS 11097, oder ist an der Oberfläche, die mit dem Kollagen in Kontakt gebracht wird, mit diesem zellkultur-geeignetem Material zumindest teilweise beschichtet.

DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER FIGUREN

[0089] Figuren 1 bis 4 sind im Abschnitt der Beispiele beschrieben.

[0090] Figur 5 zeigt einen Schnitt der Vorderansicht (a) und einen vom ersten Schnitt unabhängigen Schnitt der Seitenansicht (b) einer bevorzugte Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung 1, welche ein Behältnis 2, umfassend einen von einem Boden 3 und zumindest einer Wand 4 begrenzten Innenraum 5 umfasst. Das Behältnis 2 ist dazu ausgebildet ein geliertes wasserhaltiges Kollagen im Innenraum 5 aufzunehmen. Weiters umfasst das Behältnis 2 einen den Innenraum 5 des Behältnisses 2 abschließenden, in Richtung des Bodens verlaufende, erste Pressrichtung 6 verschiebbaren Kolben 7. Die Vorrichtung 1 ist dadurch gekennzeichnet, dass die zumindest eine Wand 4 Segmente umfasst, wobei zumindest eines dieser Segmente 8 in eine, im Wesentlichen orthogonal auf die erste Pressrichtung 6 orientierte, zweite Pressrichtung 9 verschiebbar ist. Der Boden 3 weist eine in den Innenraum 5 einmündende Öffnung 10 zum Entfernen von Wasser aus dem Innenraum 5 des Behältnisses 2 auf. Diese Öffnung 10 zum Entfernen von Wasser aus dem Innenraum 5 des Behältnisses 2 ist mit einem weiteren Behältnis 11 zur Wasseraufnahme verbunden. Die Vorrichtung 1 umfasst zwei Arretierungsmittel 12, welche dazu ausgebildet sind den in die erste Pressrichtung 6 verschiebbaren Kolben 7 und das in die zweite Pressrichtung 9 verschiebbare Segment 8 in einer Endposition der ersten und zweiten Pressrichtung am Behältnis 2 zu arretieren.

[0091] Im Folgenden sind Beispiele zur Veranschaulichung der Erfindung beschrieben.

BEISPIELE

Beispiel 1: Herstellung des Kollagen GC

[0092] Beispiel 1 beschreibt die Herstellung des Kollagen aus Sehnen von Rattenschwänzen und verweist auf kommerziell erhältliche Kollagen Typ I Lösungen.

[0093] Die Isolation von Kollagen aus Sehnen von Rattenschwänzen kann wie im Stand der Technik, beispielsweise in DE 100 26 789, beschrieben durchgeführt werden. Hierbei entsteht Kollagen MS, welches von älteren Ratten isoliert wurde als Kollagen GC.

Beispiel 2: Gelierung des Kollagen GC

[0094] Beispiel 2 beschreibt die Gelierung des Kollagen GC.

[0095] Die Gelierung des Kollagen GC umfasste beispielhaft folgende Schritte:

- a. Herstellung einer Gelneutralisationslösung, umfassend folgende Bestandteile, dargestellt in Tabelle 1:

Tabelle 1: Bestandteile der Gelneutralisationslösung

Bestandteil
D-Glucose
Ham's F-12 Medium (10x, mit stabilem Glutamin, ohne Natriumhydrogencarbonat)
HEPES-Lösung (3 M, pH 7,8)
Natriumhydrogencarbonat
dH ₂ O

- b. Mischen der Kollagen GC Lösung mit der Gelneutralisationslösung im Verhältnis 1:1 (v/v) bis zur Homogenität, wodurch eine Neutralisation auf physiologischen pH-Wert erfolgte
- c. Gießen der homogenen Lösung aus dem vorherigen Schritt in eine im Querschnitt rechteckige Gießkammer (Länge: 20 cm, Breite: 2,7 cm, Höhe 5 cm). Die Gießkammer ist in

einer Apparatur platziert.

- d. Gelierung der homogenen Lösung des vorherigen Schrittes in der Gießkammer für 2,5 h bei 34 °C

Beispiel 3: Pressen des gelierten Kollagens GC

[0096] Beispiel 3 beschreibt das zweidimensionale Pressen des gelierten Kollagen GC.

[0097] Das zweidimensionale Pressen des gelierten Kollagen GC umfasste beispielhaft folgende Schritte:

- a. Umbau der Apparatur aus Beispiel 2, worin der Kunststoffdeckel durch eine Abdeckhaube mit einem Stempel (Gewicht Haube + Stempel 1,01 kg) ersetzt wurde
- b. Anfeuchten der unteren Filterplatte mit PBS⁺-Lösung
- c. Verwendung der Spacer
- d. Verschließen der Apparatur mit der Abdeckhaube
- e. Erste Pressung für 12 h bei 2-6 °C auf ein Endmaß von 2,7 mm
- f. Entnahme des eindimensional gepressten gelierten Kollagens GC
- g. Einlegen des eindimensional gepressten gelierten Kollagens GC in die Apparatur unter seitlicher Öffnung der Gießkammer
- h. Verwendung der Spacer
- i. Zweite Pressung bei 2-6 °C auf ein Endmaß von 2,7 mm umfasste folgende Schritte:
 - i. 2,5 kg für 4 h
 - ii. 5 kg für 20 h
 - iii. 10 kg für 24 h

Beispiel 4: Weiterverarbeitung des gepressten Kollagens GC

[0098] Beispiel 4 beschreibt die Weiterverarbeitung des zweidimensional gepressten Kollagens GC.

[0099] Die Weiterverarbeitung des zweidimensional gepressten Kollagens GC umfasste beispielhaft folgende Schritte:

- a. Entnahme des zweidimensional gepressten Kollagens GC mit einer Kantenlänge von 2,7 mm aus der Apparatur
- b. Konfektionieren des zweidimensional gepressten Kollagens GC in beispielsweise 5 cm lange Stücke
- c. Überführen der Stücke aus dem vorherigen Schritt in mit PBS⁺-Puffer gefüllte Applikationsröhrchen mit einem Innendurchmesser von 3,5 mm, wodurch die Stücke auf einen runden Querschnitt mit einem Durchmesser von 3,5 mm aufquollen
- d. Lagerung der Stücke aus dem vorherigen Schritt bei 2- 10°C
- e. Gamma-Sterilisation der Stücke aus einem der beiden vorherigen Schritte bei 15-20 kGy, bevorzugt 17,5-17,7 kGy bei 2-37 °C

Beispiel 5: Biomechanische Tests des erfindungsgemäßen Produktes als Implantat nach einem Bandscheibenvorfall

[00100] Beispiel 5 beschreibt die biomechanischen Eigenschaften des erfindungsgemäßen Produktes, welches als Implantat in Teilen humaner Wirbelsäulen nach einem Bandscheibenvorfall eingesetzt wurde.

[00101] Aufgrund der Eigenschaften des erfindungsgemäßen Produktes kann es als Implantat bei der Behandlung eines Bandscheibenvorfalles verwendet werden. Zu diesen Eigenschaften zählen beispielsweise der Kollagengehalt von 240 mg/mL, welcher dem vom nativen Nucleus pulposus ähnelt.

[00102] Beispiel 5a: Herstellung des Implantats

[00103] Die Herstellung des erfindungsgemäßen Implantats erfolgte nach dem erfindungsgemäßen Verfahren. Das Implantat bestand zu 98,5 % aus purem nativem Kollagen Typ I und hatte folgende Dimensionen: 50 mm x 3,5 mm (Länge x Durchmesser).

[00104] Beispiel 5b: Herkunft und Vorbereitung der Proben der Wirbelsäule

[00105] Die in vitro Versuche wurden an sechs Proben, welche funktionelle Einheiten der menschlichen Lendenwirbelsäule darstellten, durchgeführt. Tabelle 2 stellt eine Übersicht der Proben dar.

Tabelle 2

Probennummer	Bandscheibenlevel	Pfirmann-Grad	Bandscheibenhöhe [mm]
1	L5-S1	3	7,4
2	L3-L4	2	10,4
3	L5-S1	3	8,5
4	L2-L3	2	7,6
5	L4-L5	3	7,2
6	L3-L4	2	8,5

[00106] Die sechs Proben stammten von vier menschlichen Spendern. Jede Probe bestand aus einer Bandscheibe und ihren beiden angrenzenden Wirbeln, wodurch sich das Bandscheibenlevel ergibt. Ein Pfirmann-Grad von 1-3 wurde als angemessene Bandscheibenqualität für die Indikation eines Bandscheibenprolapses gewertet.

[00107] Die Proben wurden von Weichteilgewebe und Muskelfasern befreit. Um die Proben in den Testgeräten adäquat montieren zu können wurden diese jeweils am kranialen und am kaudalen Ende in Polymethylmethacrylat (PMMA) eingebettet.

[00108] Beispiel 5c: Schritte der Probenbehandlung

[00109] Erzeugung eines posterioren Defektes

[00110] Mittels einer Knochenzange wurde jede Probe einer Laminektomie unterzogen. Hierbei wurde ein „Box-cut“ von 6 x 7 mm im Anulus Fibrosus erzeugt. Ein Box-cut ist eine rechteckige Öffnung, welche mittels eines Hohlmeißels erstellt werden kann. Dieser Hohlraum wurde erzeugt, um in einem späteren Schritt den Anulus Fibrosus mit einem entsprechenden Implantat verschließen zu können.

[00111] Erzeugen eines Bandscheibenprolapses

[00112] Mittels eines zyklischen Belastungstests wurde ein Bandscheibenprolaps, d.h. der Durchtritt des Nucleus pulposus-Materials durch den Anulus fibrosus, erzeugt.

[00113] Der zyklische Belastungstest wurden im servohydraulischen Laderahmen (Instron 8871, Darmstadt, Deutschland) durchgeführt. Ein speziell angefertigter Drehsockel wurde an der Stützfläche der Materialprüfmaschine montiert. Die Probe wurde an die Rotationsbasis angeflanscht, die eine Rotationsgeschwindigkeit von 360°/min beibehält. Die Rotationsbasis wurde dann um 30 mm seitlich verschoben, um eine exzentrische zyklische Belastung der Proben zu erreichen. Die Belastung des Hydraulikkolbens wurde linear auf 350 N erhöht. Anschließend wurde eine sinusförmige Kraft im Bereich von 100-600 N bei 5 Hz bis maximal 100.000 Zyklen aufgebracht. Dieses Maximum von 100.000 Zyklen wurde definiert, um die Experimente innerhalb von 12 Stunden durchzuführen und so eine Degradation der Proben zu vermeiden. Die 30 mm Seitenverschiebung wirkte effektiv wie ein Hebelarm, so dass maximal 18 Nm aufgebracht werden konnten. Der Test bzw. die Belastung wurde abgebrochen, als der das Nucleus pulposus-Material austrat. Das ausgetretene Nucleus pulposus-Material wurde entfernt, auch aus dem erzeugten Boxcut.

Es wurde daher eine Teil-Nukleotomie durchgeführt.

[00114] Implantation des erfindungsgemäßen Implantats

Die Implantation erfolgte minimalinvasiv. Das erfindungsgemäße Implantat wurde mittels eines Stempels in die Bandscheibe gedrückt. Das Nucleus pulposus-Material ist in einer intakten Bandscheibe durch den Anulus fibrosus umschlossen und erhält dadurch eine natürliche Stütze. Um die Funktionalität des erfindungsgemäßen Implantats festzustellen und diese mit dem Nucleus pulposus-Material in einer intakten Bandscheibe zu vergleichen, wurde der mittels „Box-cut“ erzeugte Defekt durch die Anulus fibrosus-Verschlussvorrichtung Barricaid® (Intrinsic Therapeutics, Deutschland) verschlossen.

[00115] Beispiel 5d: Durchführung der biomechanischen Tests

[00116] Testumgebung

[00117] Die Tests wurden bei Raumtemperatur durchgeführt. Dabei waren die Proben in mit Salzlösung getränktem Verbandsmull gewickelt um Dehydrierung und Desintegration zu vermeiden.

[00118] Bestimmung der Flexibilität

[00119] Dieser Test wurde bei der intakten Bandscheibe, nach dem „Box-cut“, nach der Nukleotomie, nach der Implantation des erfindungsgemäßen Implantats und nach dem zyklischen Belastungstest durchgeführt.

[00120] Zur Bestimmung der Flexibilität wurde die Probe zunächst am kaudalen Ende fixiert. Auf das kraniale Ende wurden reine Beugemomente mit konstant 1,5 °/s aufgebracht. Hierbei wurden $\pm 7,5$ Nm für folgende Richtungen eingesetzt: laterale Beugung rechts/links (+/-), Beugung/Dehnung (+/-) und links/rechts (+/-) axiale Rotation.

[00121] Die Proben wurden 3,5 Belastungszyklen ausgesetzt. Die ersten 2,5 dienten als Vorzyklen, um den Effekt einer visko-elastischen Reaktion zu minimieren. Der letzte Zyklus wurde für die Ergebnisse herangezogen.

[00122] Bestimmung des Druckes innerhalb der Bandscheibe

[00123] Dieser Test wurde bei der intakten Bandscheibe, nach dem „Box-cut“, nach der Nukleotomie, nach der Implantation des erfindungsgemäßen Implantats und nach dem zyklischen Belastungstest durchgeführt.

[00124] Der Druck innerhalb der Bandscheibe wurde mittels einem implantierten Drucksensors erfasst, welcher im Nucleus der Bandscheibe positioniert wurde.

[00125] Bestimmung der Bandscheibenhöhe

[00126] Dieser Test wurde bei der intakten Bandscheibe, nach dem „Box-cut“, nach dem Bandscheibenvorfall, nach der Nukleotomie, nach der Implantation des erfindungsgemäßen Implantats und nach dem zyklischen Belastungstest durchgeführt.

[00127] Die Höhe der Bandscheibe wurde mittels der Instron Materialtestmaschine bestimmt. Es wurde eine Vorkraft von 100 N für 5 s vor der Messung auf die Probe aufgebracht.

[00128] Zyklischer Belastungstests

[00129] Dieser Test wurde nach der Implantation des erfindungsgemäßen Implantats durchgeführt.

[00130] Die zyklischen Belastungstests wurden im servohydraulischen Laderahmen (Instron 8871, Darmstadt, Deutschland) durchgeführt. Ein speziell angefertigter Drehsockel wurde an der Stützfläche der Materialprüfmaschine montiert. Die Proben wurden an die Rotationsbasis angeflanscht, die eine Rotationsgeschwindigkeit von 360°/min beibehält. Die Rotationsbasis wurde dann um 30 mm seitlich verschoben, um eine exzentrische zyklische Belastung der Proben zu erreichen. Die Belastung des Hydraulikkolbens wurde linear auf 350 N erhöht. Anschließend wurde eine sinusförmige Kraft im Bereich von 100-600 N bei 5 Hz bis maximal 100.000 Zyklen

aufgebracht. Die 30 mm Seitenverschiebung wirkte effektiv wie ein Hebelarm, sodass maximal 18 Nm aufgebracht werden konnten. Nach der Implantation wurde der Test nicht vor 100.000 Belastungszyklen beim Austritt von Kernmaterial gestoppt, sondern beim Austritt des Implantats. Dieses Maximum von 100.000 Zyklen wurde definiert, um die Experimente innerhalb von 12 Stunden durchzuführen und so eine Degradation der Proben zu vermeiden.

[00131] Bestimmung der Widerstandsfähigkeit gegen einen erneuten Prolaps

[00132] Dieser Test wurde nach dem zyklischen Belastungstest durchgeführt.

[00133] Zur makroskopischen Beurteilung wurden die Bandscheiben an der mittleren transversalen Ebene der Bandscheibe durchgeschnitten. Es wurden Fotos zur Bestimmung des Zustandes des Implantats mit einer digitalen Kamera angefertigt.

[00134] Beispiel 5e: Ergebnisse der biomechanischen Tests

[00135] Bestimmung der Flexibilität

[00136] Figur 1 zeigt die Ergebnisse dieses Tests, welcher bei der intakten Bandscheibe (a), nach dem „Box-cut“ (b), nach der Nukleotomie (c), nach der Implantation des erfindungsgemäßen Implantats (d) und nach dem zyklischen Belastungstest (e) durchgeführt wurde.

[00137] Es ist ersichtlich, dass der Bewegungsradius im Anschluss an die Implantation auf ein vergleichbares Level mit jenem der intakten Bandscheibe sank. Dieser positive Effekt wurde durch den zyklischen Belastungstest wieder aufgehoben.

[00138] Bestimmung des Druckes innerhalb der Bandscheibe

[00139] Figur 2 zeigt die Ergebnisse dieses Tests, welcher bei der intakten Bandscheibe (a), nach dem „Box-cut“ (b), nach der Nukleotomie (c), nach der Implantation des erfindungsgemäßen Implantats (d) und nach dem zyklischen Belastungstest (e) durchgeführt wurde.

[00140] Der Druck innerhalb der Bandscheibe konnte durch die Implantation sogar über jenen in der intakten Bandscheibe erhöht werden. Der Druck konnten in den meisten Fällen auch durch den zyklischen Belastungstest nicht gesenkt werden.

[00141] Bestimmung der Bandscheibenhöhe

[00142] Figur 3 zeigt die Ergebnisse dieses Tests, welcher bei der intakten Bandscheibe (a), nach dem „Box-cut“ (b), nach dem Bandscheibenvorfall (c), nach der Nukleotomie (d), nach der Implantation des erfindungsgemäßen Implantats (e) und nach dem zyklischen Belastungstest (f) durchgeführt wurde.

[00143] Die Höhe der Bandscheibe konnte durch die Implantation auf jene einer intakten Bandscheibe gesenkt werden. Auch hier wurde der Effekt durch den zyklischen Belastungstest wieder aufgehoben.

[00144] Bestimmung der Widerstandsfähigkeit gegen einen erneuten Prolaps

[00145] Figur 4 zeigt das Ergebnis dieses Tests. Die Pinzette zeigt auf das Implantat. Das Implantat verblieb innerhalb des umgebenden Nucleus pulposus-Materials an der implantierten Stelle. Es kam durch den zyklischen Belastungstest zu keinem erneuten Bandscheibenprolaps.

[00146] Zusammenfassung der Ergebnisse

[00147] Einem funktionellen Abschnitt der menschlichen Lendenwirbelsäule wurde ein Bandscheibenprolaps zugefügt. Durch das erfindungsgemäße Implantat konnte sowohl die Flexibilität, als auch die Höhe der Bandscheibe an jene der intakten Bandscheibe angeglichen werden. Der Druck innerhalb der Bandscheibe überstieg im Anschluss an die Implantation sogar jene der intakten Bandscheibe.

[00148] Möglichkeit der Anwendung des erfindungsgemäßen Implantats im Menschen

[00149] Wie durch die obigen Beispiele gezeigt wurde, eignet sich das erfindungsgemäße Implantat dazu, die Eigenschaften einer Bandscheibe nach einem Bandscheibenvorfall wiederher-

zustellen. Allgemein, kann ein Bandscheibenvorfall, welcher mit Rücken- und/oder Beinschmerzen einhergeht, mittels einer Nukleotomie behandelt werden. Im Rahmen dessen wird Nucleus pulposus-Material entfernt. Das Implantat gemäß dem erfindungsgemäßen Produkt kann als Ersatz für das entfernte Nucleus pulposus-Material verwendet werden und mittels Stößel aus dem Applikationsröhrchen in den Defekt geschoben werden. Die Menge des implantierten Implantats kann nach der Höhe der benachbarten Bandscheiben bestimmt werden, wie beispielsweise in Hong et al. (Asian Spine Journal, Band 4, Nr. 1, Seite 1-6, 2010) beschrieben.

[00150] Der Einsatz des erfindungsgemäßen Implantats als Ersatz für das entfernte Nucleus pulposus-Material kann mittels minimalinvasiver Operationstechnik erfolgen.

[00151] Im Anschluss an das Einsetzen des Implantats sollte der Anulus fibrosus verschlossen werden. Geeignete Verschlusssysteme sind kommerziell erhältlich, wie beispielsweise Barri-
caid® (Intrinsic Therapeutics, Deutschland).

Patentansprüche

1. Verfahren zum Herstellen von verdichtetem Kollagen umfassend die Schritte
 - a) Pressen eines gelierten Kollagens in einer ersten Pressrichtung (6) und
 - b) Pressen des gelierten Kollagens aus Schritt a) in einer zur ersten Pressrichtung (6) im Wesentlichen orthogonalen zweiten Pressrichtung (9),wobei das Pressen in Schritt a) bei einem Druck im Bereich von 0,01 bis 0,05 bar und in Schritt b) bei einem Druck im Bereich von 0,5 bar bis 2 bar durchgeführt wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Pressen in Schritt a) bei einem Druck im Bereich von 0,012 bis 0,03 bar, vorzugsweise bei 0,01833 bar, und/oder Schritt b) bei einem Druck im Bereich von 1 bar bis 1,5 bar, vorzugsweise bei 1,01551 bar, durchgeführt wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Pressen durch linear oder stufenförmig steigenden Druck erfolgt.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass Schritt a) für 1 bis 48 Stunden, vorzugsweise für 6 bis 24 Stunden, noch mehr bevorzugt für 8 Stunden bis 18 Stunden, noch mehr bevorzugt für 10 Stunden bis 14 Stunden, insbesondere für 12 Stunden, und/oder Schritt b) für 6 bis 96 Stunden, vorzugsweise für 12 bis 72 Stunden, noch mehr bevorzugt für 24 bis 66 Stunden, noch mehr bevorzugt für 30 bis 60 Stunden, noch mehr bevorzugt für 36 bis 54 Stunden, noch mehr bevorzugt für 42 Stunden bis 52 Stunden, noch mehr bevorzugt für 46 Stunden bis 50 Stunden, insbesondere für 48 Stunden, durchgeführt wird.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, dass das gelierte Kollagen durch Gelieren einer Kollagen-haltigen Lösung, umfassend 1 bis 20 mg, noch mehr bevorzugt 1 bis 10 mg, noch mehr bevorzugt 2 mg bis 8 mg, noch mehr bevorzugt 4 mg bis 6 mg, insbesondere 5,5 mg bis 6,5 mg, gelöstes Kollagen pro mL Lösung, durch Zugabe eines pH erhöhenden Mittels bereitgestellt wird.
6. Verfahren nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Kollagen-haltige Lösung durch Lösen von Kollagen in einer wässrigen Lösung umfassend 0,01 bis 1%, vorzugsweise 0,05 bis 0,5%, vorzugsweise 0,01 bis 0,2%, insbesondere 0,1%, einer organischen Säure mit einem pKS-Wert von vorzugsweise 4,5 bis 5, noch mehr bevorzugt von 4,6 bis 4,9, insbesondere von 4,7 bis 4,8, hergestellt wird.
7. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, **dadurch gekennzeichnet**, dass das pH erhöhende Mittel eine Puffersubstanz, vorzugsweise 2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure (HEPES), ist.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet**, dass das verdichtete Kollagen in ein Aufnahmegefäß überführt wird, welches eine PBS Lösung enthält.
9. Kollagenhaltiges Produkt umfassend verdichtetes Kollagen erhältlich nach einem Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 8.
10. Implantat umfassend ein kollagenhaltiges Produkt nach Anspruch 9.
11. Implantat nach Anspruch 10, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Implantat als Nucleus pulposus-Ersatz, Meniskusersatz, Bandersatz und/oder Sehnenerersatz geeignet ist.
12. Kollagenhaltiges Produkt oder Implantat umfassend verdichtetes Kollagen mit einer Dichte von größer 150 mg/mL, bevorzugt größer 200 mg/mL, am bevorzugtesten größer 240 mg/mL, erhältlich nach einem Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 8.
13. Vorrichtung (1) zur Ausführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 7, umfassend:
 - ein Behältnis (2), umfassend einen von einem Boden (3) und zumindest einer Wand (4) begrenzten Innenraum (5), wobei das Behältnis (2) dazu ausgebildet ist ein geliertes wasserhaltiges Kollagen im Innenraum (5) aufzunehmen und

- einen den Innenraum (5) des Behältnisses (2) abschließenden in eine, in Richtung des Bodens verlaufende, erste Pressrichtung (6) verschiebbaren Kolben (7),
dadurch gekennzeichnet, dass die zumindest eine Wand (4) Segmente umfasst, wobei zumindest eines dieser Segmente (8) in eine, im Wesentlichen orthogonal auf die erste Pressrichtung (6) orientierte, zweite Pressrichtung (9) verschiebbar ist.
14. Vorrichtung (1) nach Anspruch 13, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Boden (3), die zumindest eine Wand (4) und/oder der Kolben (7) zumindest eine in den Innenraum (5) einmündende Öffnung (10) zum Entfernen von Wasser aus dem Innenraum (5) des Behältnisses (2) aufweist.
 15. Vorrichtung (1) nach Anspruch 13 oder 14, **dadurch gekennzeichnet**, dass die zumindest eine Öffnung (10) zum Entfernen von Wasser aus dem Innenraum (5) des Behältnisses (2) mit zumindest einem weiteren Behältnis (11) zur Wasseraufnahme verbunden sind.
 16. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 13 bis 15, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Vorrichtung (1) zumindest ein Arretierungsmittel (12) umfasst, welches dazu ausgebildet ist den in die erste Pressrichtung (6) verschiebbaren Kolben (7) und/oder das in die zweite Pressrichtung (9) verschiebbare Segment (8) in einer Endposition der ersten (6) und/oder zweiten Pressrichtung (9) am Behältnis (2) zu arretieren.
 17. Verwendung der Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 13 bis 16 in einem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8.

Hierzu 4 Blatt Zeichnungen

1/4

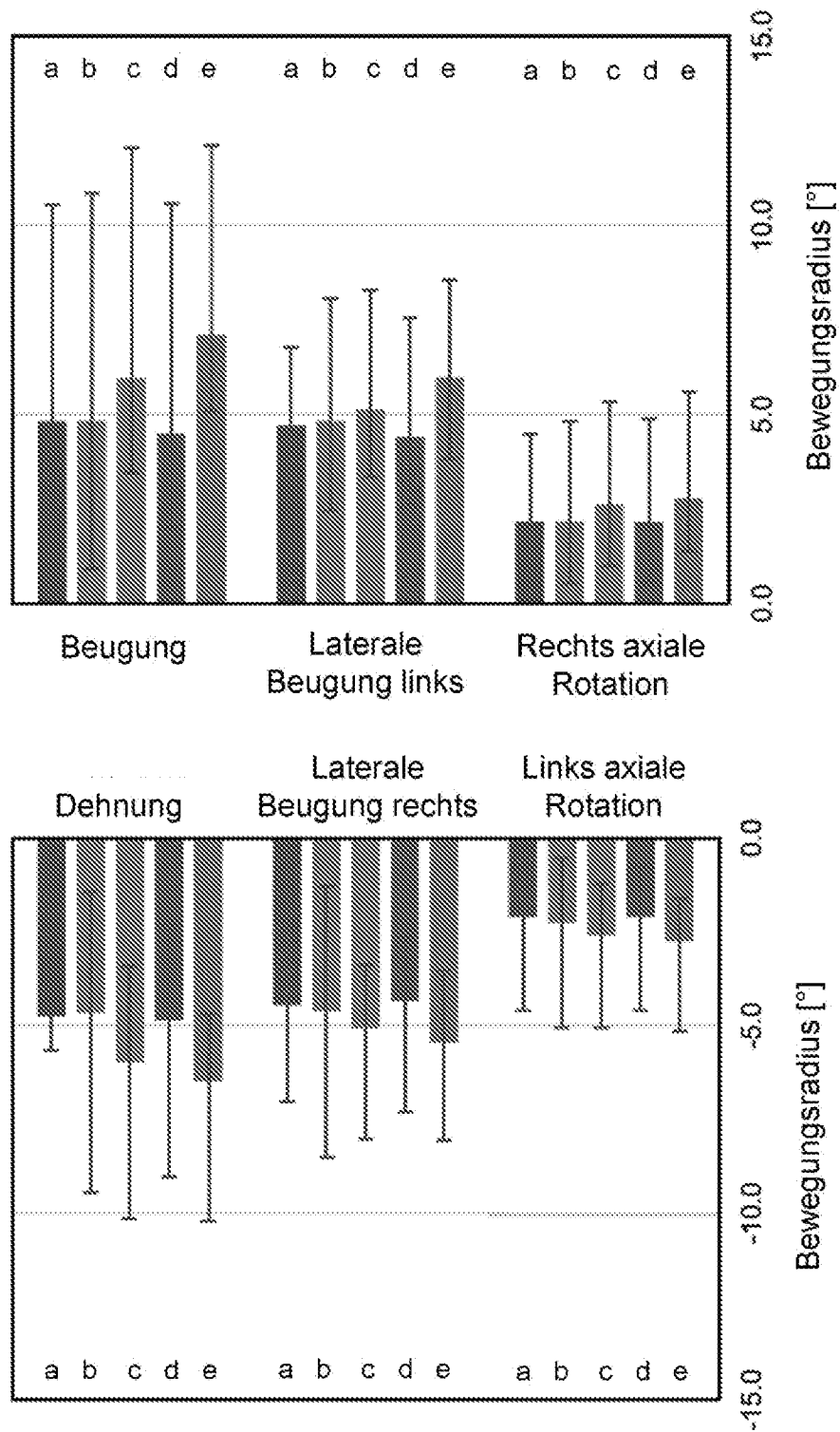


Fig. 1

2/4

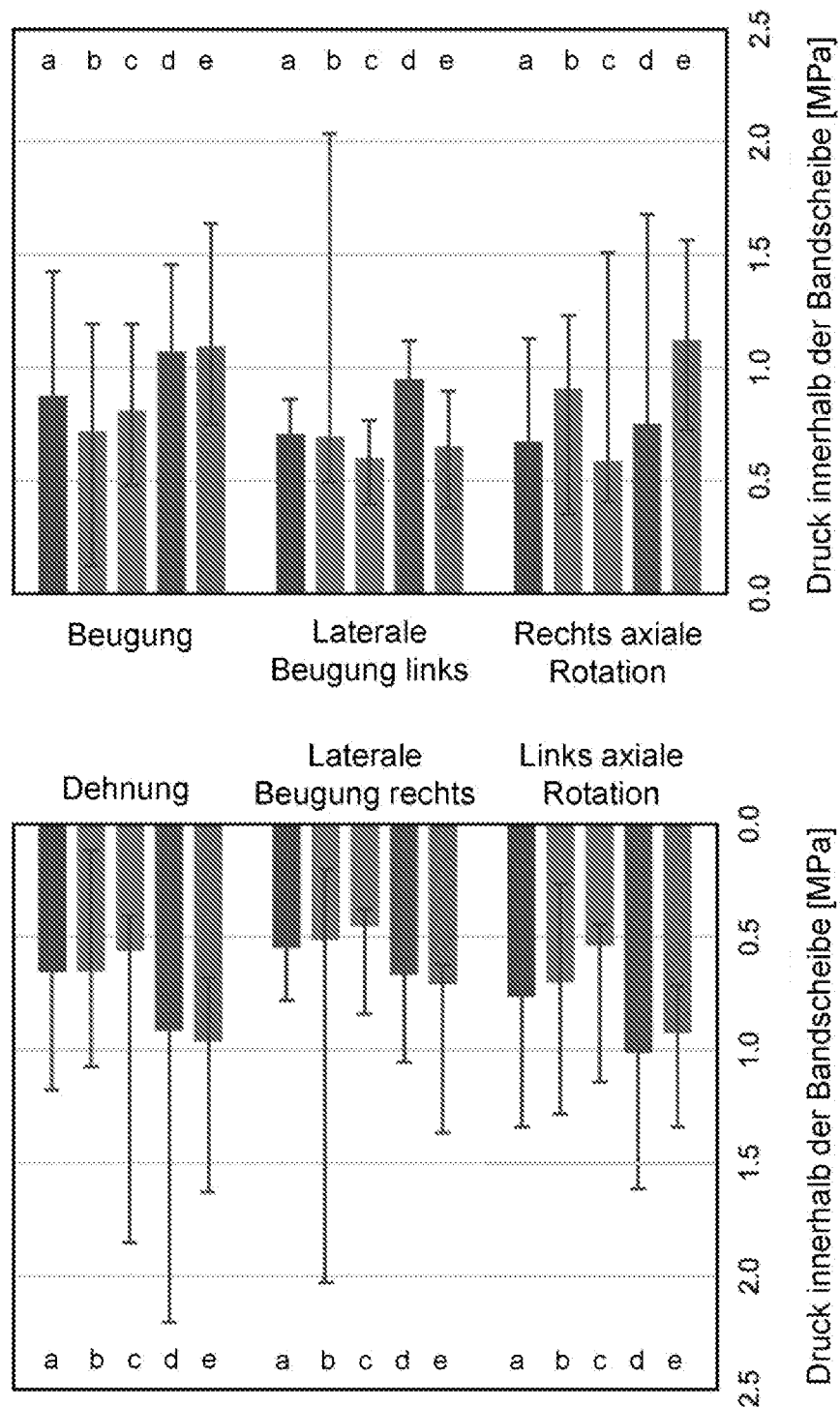


Fig. 2

3/4

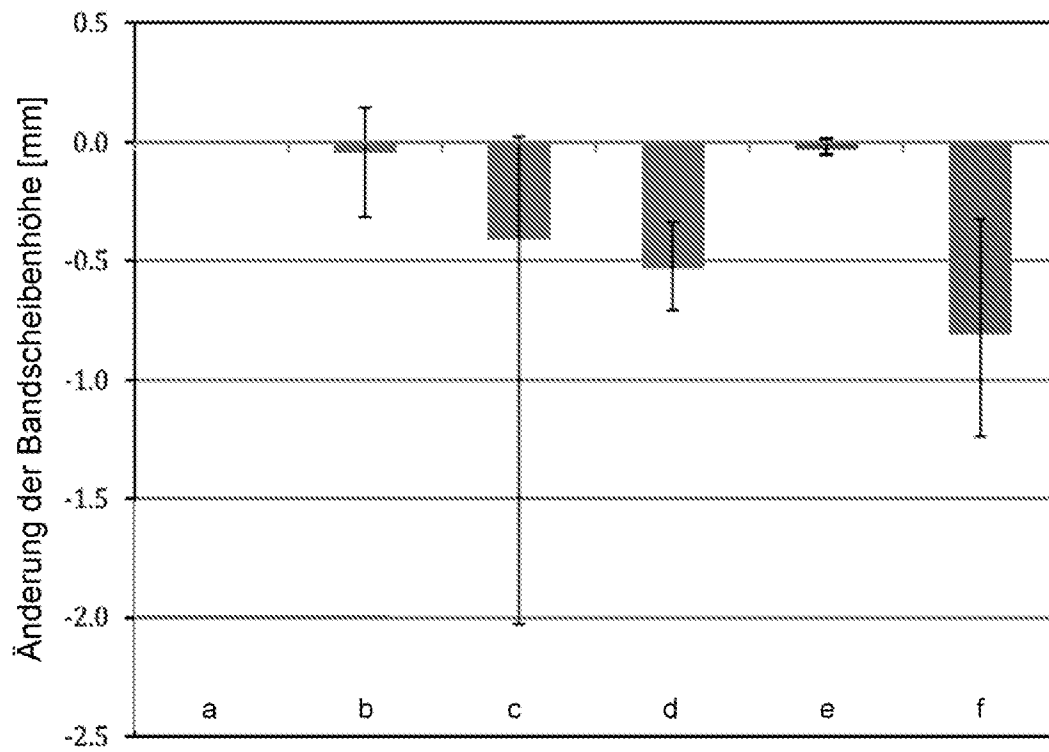


Fig. 3

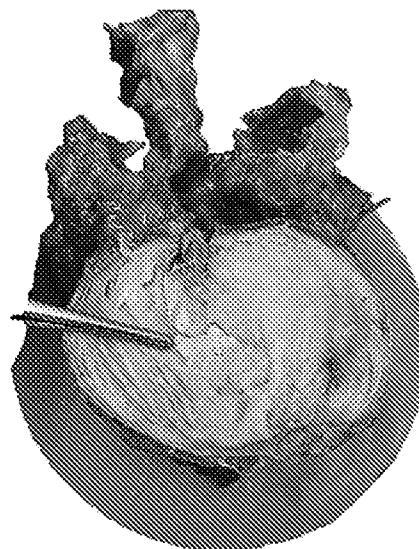


Fig. 4

4/4

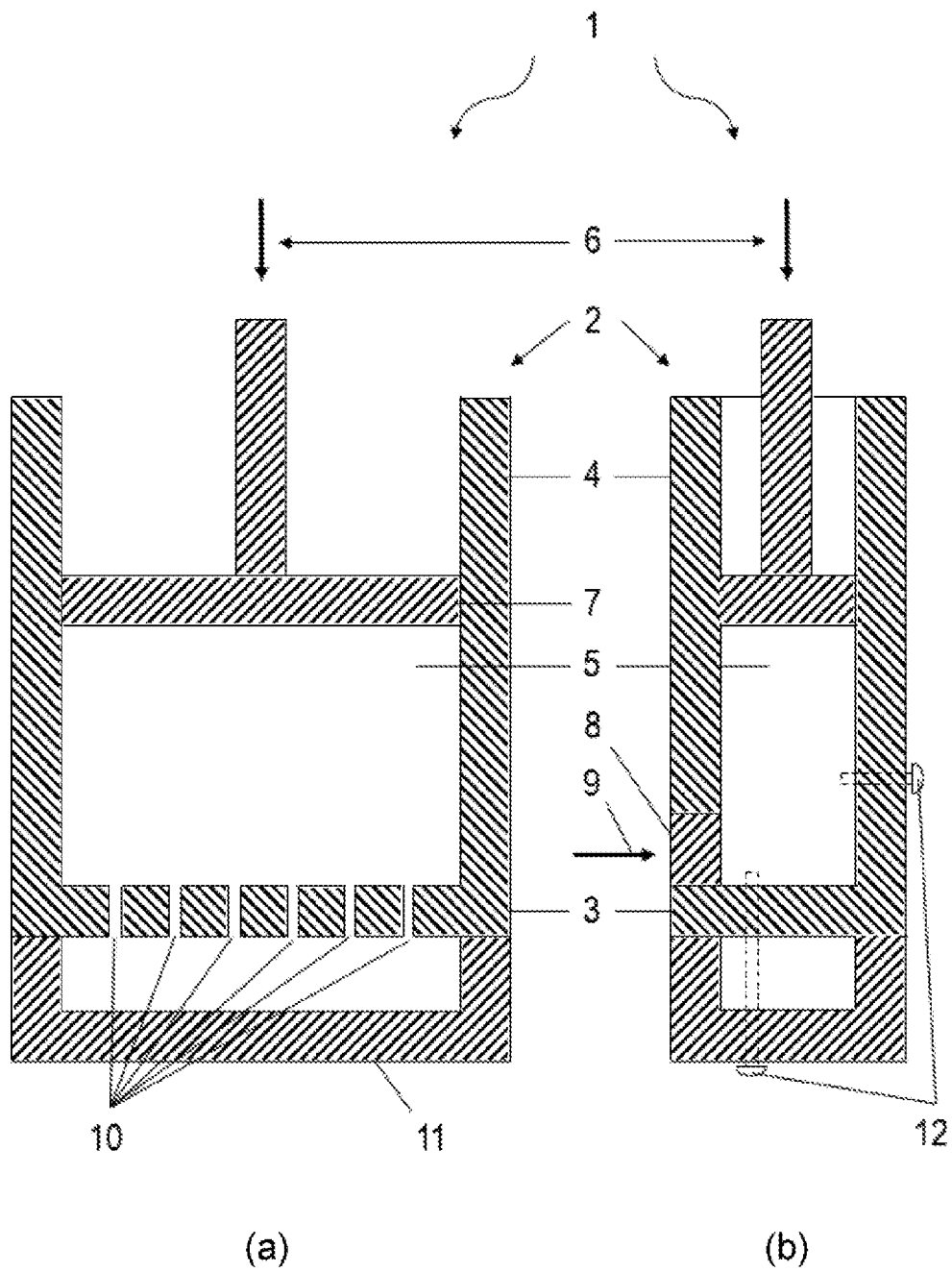


Fig. 5