Aus der Klinik und Poliklinik für
Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie,
(Direktor: Univ.- Prof. Dr. Dr. B. Frerich)
der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

Untersuchung zur Oberflächenmodifikation von Polyetheretherketon-Implantaten mittels Silica-Hydroxylapatit-Beschichtung

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

(Dr. med.)

der

Medizinischen Fakultät

der

Universität Rostock

vorgelegt von: Constantin Leon Graw

geb. am: 06.09.1994

in: Recklinghausen

https://doi.org/10.18453/rosdok_id00004523

Dekan: Prof. Dr. med. univ. Emil C. Reisinger

1. Gutachter: PD Dr. med. Dr. med. dent. Michael Dau (UMR Rostock)

2. Gutachter: Prof. Dr.-Ing. habil. Niels Grabow (UMR Rostock)

3. Gutachter: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Ralf Smeets (UKE Hamburg)

Jahr der Einreichung: 2022

Tag der Disputation: 28.11.2023

Raum: Hörsaal Institut für Pathologie (3. Etage)

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung 1
   1.1 Knochen 3
      1.1.1 Knochenaufbau 4
      1.1.2 Knochenumbau und Implantateinheilung 6
   1.2 PEEK 8
      1.2.1 Struktur und Eigenschaften 8
      1.2.2 Einsatz in der Medizin 11
      1.2.3 Modifikationen zur Verbesserung der Osseointegration 13
   1.3 NanoBone®-Technologie 15
   1.4 Zielsetzung und Fragestellungen der Arbeit 17
2. Material und Methoden 19
   2.1 Herstellung der Implantate und Beschichtung 19
   2.2 Versuchstiere, Operation und Aufarbeitung der Proben 21
   2.3 Histomorphometrische Untersuchung 25
      2.3.1 Knochenfläche periimplantäres Lager 25
      2.3.2 Bone-to-Implant-Contact (BIC) 26
   2.4 Biomechanische Untersuchung 27
   2.5 Statistische Methoden 28
3. Ergebnisse 29
   3.1 Histologische Auswertung 29
   3.2 Histomorphometrische Auswertung 33
      3.2.1 Knochenfläche periimplantäres Lager 33
      3.2.2 Bone-to-Implant-Contact (BIC) 35
   3.3 Biomechanische Untersuchung 36
4. Diskussion 38
5. Zusammenfassung 43
6. Literaturverzeichnis i
7. Anhang xiii
   7.1 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis xiii
   7.2 Verwendete Reagenzien (Färbungen) xiv
   7.3 Protokoll für Giemsa-Toluidinblau-Färbung xv
8. Thesen xvi

9. Curriculum vitae xvii
10. Erklärung xvii
11. Danksagung xix

Abkürzungsverzeichnis

Abb	-	Abbildung
BIC	-	Bone-to-Implant-Contact
FDA	-	Food and Drug Administration
HA	-	Hydroxylapatit
KGr	-	Kontrollgruppe
NB	-	Nanobone®
PEEK	-	Polyetheretherketon
STABW	-	Standardabweichung
VGr	-	Versuchsgruppe

1. Einleitung

Fast die Hälfte aller befragten Deutschen gab für das Jahr 2016 mehrmalige monatliche Schmerzen im Rücken an (Abb. 1) [1]. Eine häufige Ursache hierfür sind degenerierte Bandscheiben. Hierdurch kommt es zu einer Zunahme des Drucks auf das Rückenmark oder austretende Nervenwurzeln und somit zu Schmerzen.

Neben der konservativen Therapie existieren verschiedene operative Behandlungsansätze. Eine seit Jahren erfolgreich angewandte Methode ist die Wirbelsäulenstabilisierung mit Bandscheibenplatzhaltern, sogenannten Cages. Cages dienen nach Diskektomie - der Entfernung der alten Bandscheibe - als Platzhalter im ehemaligen Bandscheiben-Bereich und stabilisieren die Position der Wirbelkörper, bis diese knöchern fusioniert sind. Erste Aufzeichnungen zur operativen Behandlung der lumbalen Spondylolisthese mit derartigen Hilfsmitteln stammen aus den frühen 1930er

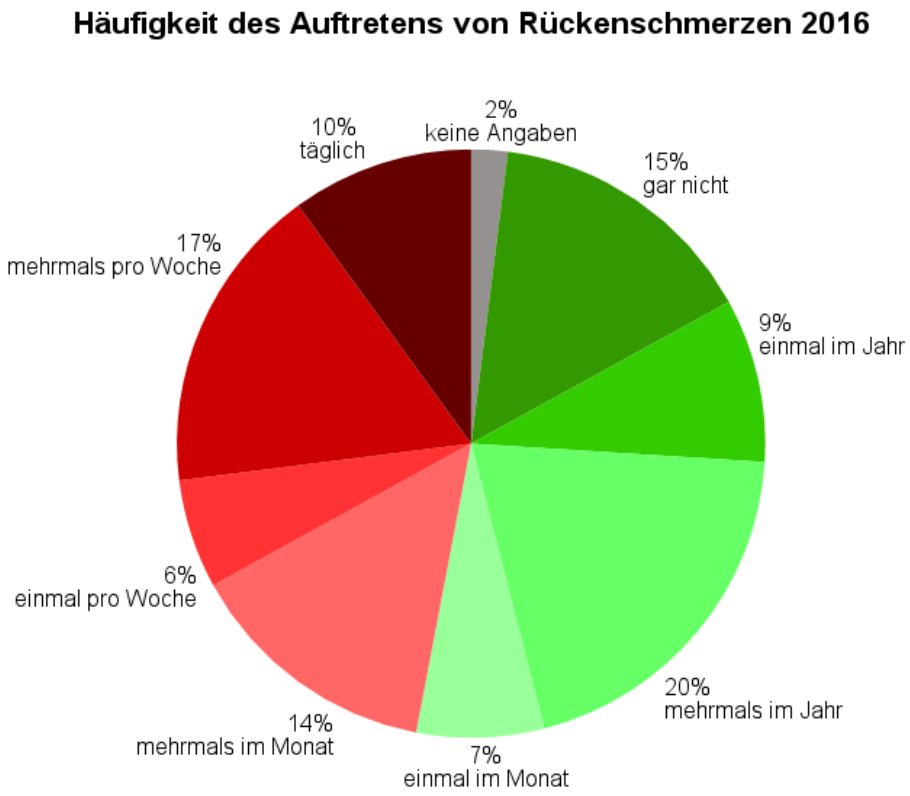


Abbildung 1: Auflistung der Häufigkeit von Rückenschmerzen auf Basis einer Umfrage zu Rückenschmerzen in Deutschland [1].

Jahren [2, 3]. Seitdem haben sich operative Eingriffe an der lumbalen Wirbelsäule mit Implantation von Cages als gängige Behandlung für diverse Indikationen etabliert [4]. Zur Verbesserung der Fusionsraten der Wirbelkörper sowie des klinischen Outcomes wurden neben den Operationstechniken stetig das Design der Cages sowie die dafür verwendeten Materialien optimiert. Der erste Cage, der in die Wirbelsäule von Pferden implantiert wurde, bestand aus rostfreiem Stahl und wurde mit autologem Knochen gefüllt, um eine Fusion der Wirbelkörper zu erreichen [5, 6]. Spätere Cages wurden in verschiedenen Designs vor allem aus Titan hergestellt. [7, 8]. Der Brantigan Cage war in den 1990er Jahren der erste Cage, der aus Carbonfaser-verstärktem Polyetheretherketon (PEEK) hergestellt wurde [9]. PEEK ist ein Polymer aus aromatischen Kohlenstoffketten, das erstmalig 1978 synthetisiert wurde. Diese Polymer-Cages sind meist als Platzhalter mit einer zentralen Kavität konstruiert, die zwischen zwei Wirbelkörpern positioniert und mit autologem Knochen oder Knochenaufbaumaterialien gefüllt werden und eine langfristige Wirbelfusion ermöglichen sollen (Abb. 2).

Seit der Einführung von PEEK-Cages 1978 bewiesen Studien gute klinische Ergebnisse bezüglich Patientenzufriedenheit, Schmerzmitteleinnahme und radiologisch ermittelter Fusionsrate [10, 11]. Im Jahr 2017 bestanden bereits 68 % der in den USA verwendeten Cages aus PEEK [12]. PEEK ist ein Hochleistungspolymer

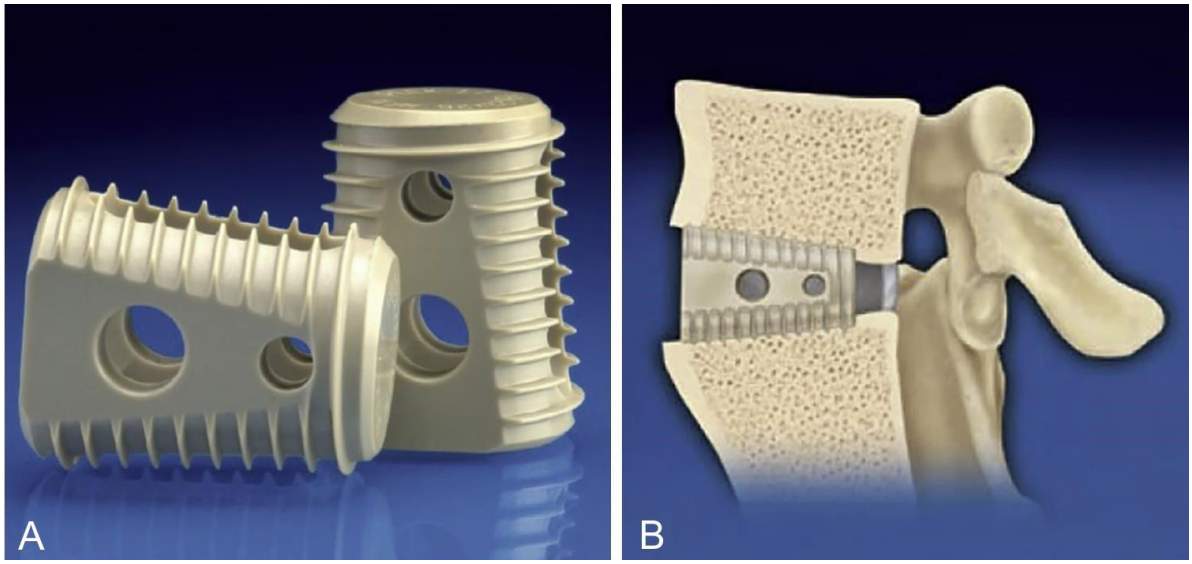


Abbildung 2: Wirbelsäulen-Cage aus PEEK (A), schematische Positionierung zwischen zwei Wirbeln (B) [12].

mit ausgezeichneten mechanischen und chemischen Eigenschaften, die es als idealen Implantatwerkstoff prädestinieren. So weist PEEK unter anderem eine hohe physikalische und chemische Beständigkeit, eine hohe Biokompatibilität und eine knochenähnliche Elastizität auf und könnte in Zukunft metallene Implantatwerkstoffe wie zum Beispiel Titan weitgehend verdrängen. Obwohl Titan in der modernen Implantatmedizin ein geeigneter Implantatwerkstoff ist, der in diversen Indikationsstellungen in den Körper eingebracht werden kann, so gilt dies doch nicht in der Gesamtheit. Wesentlicher Nachteil von Titan-Implantaten ist die verglichen mit Knochen sehr hohe Steifigkeit, welche zur Implantatlockerung führen kann [13]. Durch Abrieb von Titanpartikeln kann eine lokale Anreicherung dieser Partikel mit assoziierter Entzündungsreaktion des umliegenden Gewebes in Knochenresorption und Implantatversagen resultieren [14]. Bezüglich dieser Eigenschaften ist PEEK dem Titan überlegen. Doch auch nach mittlerweile fast 40-jähriger Forschung zu PEEK beschränkt sich der kommerzielle klinische Einsatz fast nur auf die Verwendung in Wirbelsäulen-Cages. Ein Grund dafür ist der bioinerte Charakter des Polymers, der keine direkte chemische Verbindung zu knöchernem Gewebe erlaubt und somit eine belastbare Osseointegration erschwert [15].
Im Rahmen der vorliegenden Arbeit soll die Osseointegration von PEEK-Implantaten durch eine neuartige bioaktive Beschichtung auf Basis eines Knochenaufbaumaterials verbessert werden. Dies soll an anhand einer tierexperimentellen Studie mittels histologischer, histomorphometrischer sowie biomechanischer Versuche untersucht werden.

1.1 Knochen

Um Implantate erfolgreich und belastbar im Knochen verankern zu können, bedarf es einer Kenntnis über die Prozesse, die während der Einheilung von Implantaten ablaufen sowie über die grundlegenden strukturellen und zellulären Eigenschaften des Knochens.

Der menschliche Körper weist über 200 Knochen auf [16], wobei die genaue Zahl je nach betrachtetem Alter und auch interindividuell variieren kann. Dabei erfüllt das Knochengewebe im menschlichen Körper verschiedene Funktionen struktureller und metabolischer Art. Strukturell stützt der Knochen den Körper gegen einwirkende

Kräfte, bildet ein Hebelsystem für Muskelaktionen und bietet inneren Organen Schutz. Metabolisch fungiert Knochengewebe vorrangig als Speicher für Calcium und Phosphat [17]. Obwohl Knochen vermeintlich starr und unflexibel erscheint, handelt es sich um kein statisches Gewebe. Knochen ist vaskularisiert und unterliegt in jedem Lebensalter einem ständigen Umbauprozess, der sowohl ab- als auch aufbauende Prozesse einschließt [18, 19]. Dabei kommt es physiologisch zu Knochenresorption, Bildung und Mineralisierung extrazellulärer Knochengrundsubstanz sowie Neovaskularisation.

1.1.1 Knochenaufbau

Knochen besteht aus Knochenzellen sowie der funktionstragenden Interzellularsubstanz aus Kollagenfasern und anorganischen Bestandteilen. Beim adulten Menschen liegt der größte Teil des Knochens als Lamellenknochen organisiert vor. Eine Knochenlamelle ist ein knöcherner Hohlzylinder von 5-15 µm Durchmesser, in dem Kollagenfasern parallel zueinander schraubenartig verlaufen. Je 4-15 Lamellen um einen Zentralkanal angeordnet bilden als Funktionseinheit des Knochens ein Osteon. In diesem Zentralkanal, dem Havers´schen Kanal verlaufen Blutgefäße, Nerven und Bindegewebe. Knochenzellen finden sich an den Lamellengrenzen. Die hohe Steifigkeit sowie die Biege- und Torsionsfestigkeit des Knochens ergibt sich aus der Tatsache, dass die Kollagenfasern in den einzelnen Lamellen in unterschiedlichen Steigungswinkeln verlaufen. Um eine hohe Festigkeit bei geringer Gewichtsbelastung zu ermöglichen, bildet kompaktes Knochengewebe, die *Substantia compacta,* meist nur die Rinde des Knochens. Im Inneren des Knochens, besonders in den gelenknahen Epiphysen liegt Knochen in Form von Knochenbälkchen, der *Substantia spongiosa* vor. Die Knochenbälkchen sind dabei in Richtung der höchsten Druck- und Zugbelastungen angeordnet. Dadurch wird Material gespart sowie die Stabilität erhöht. Zwischen den Knochenbälkchen befindet sich rotes, blutbildendes Knochenmark. Anhand der äußeren Form differenziert man zwischen langen (z.B. Femur, Humerus), kurzen (z.B. Handwurzel, Wirbelkörper) sowie platten Knochen (z.B. Schulterblatt) [20].

Zu den wichtigsten Zellen im Knochen zählen Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten, die für den Auf- und Abbau des Knochens verantwortlich sind. Osteoblasten gehören zu den knochenaufbauenden Zellen. Sie haben einen Durchmesser von ca. 20 µm und differenzieren aus Osteoprogenitorzellen. Zum einen bilden sie die organische Knochengrundsubstanz [19]. Zum anderen sind sie bei der anschließenden Mineralisierung beteiligt, indem sie alkalische Phosphatase freisetzen, welche die Grundsubstanz auf die Mineralisierung vorbereitet. Durch Anlagerung von Calciumionen an Pyrophosphatgruppen des Kollagens entstehen Nukleationskeime. Von diesen Keimen aus erfolgt die Kristallisation durch Ausfällung von Calciumphosphat, das sich schließlich zu Hydroxylapatit (HA) umwandelt [17]. Vollständig von mineralisiertem Osteoid eingemauerte Osteoblasten differenzieren zu Osteozyten [18].

Diese Zellen erfüllen regulatorische Aufgaben bei knochenauf- und knochenabbauenden Vorgängen. Sie sind in die mineralisierte Knochengrundsubstanz eingebettet und können eine Länge von 20-60 µm erreichen. Dabei befindet sich der Zellkörper in kleinen Lakunen, während zahlreiche Fortsätze über so genannte Canaliculi mit Fortsätzen anderer Osteozyten oder Osteoblasten über Gap Junctions in Verbindung stehen [17, 19]. Ernährt werden Osteozyten durch Nährstoffe, die aus Blutgefäßen durch die Fortsätze in den Canaliculi in Richtung Osteozytenhöhlen diffundieren [19]. Weiterhin sind sie metabolisch für den Calcium- und Phosphat-Stoffwechsel bedeutend.

Als Antagonist zu den Osteoblasten sind Osteoklasten knochenabbauende Riesenzellen. Sie entstehen durch Fusion von mononukleären Zellen, welche aus hämatopoetischem Gewebe stammen [18]. Ihr Durchmesser beträgt in der Regel rund 100 µm, sie sind polar und beweglich. Der Abbau von Knochen ist nötig für die Anpassung an sich verändernde mechanische Belastungen, dem so genannten Remodeling, wobei er eng mit der Knochenneubildung verbunden ist. Nur so können komplexe Skelettformen moduliert werden, Gefäßkanäle entstehen und das Skelett an Belastungsänderungen angepasst werden [17, 19]. Weiterhin wird der Abbau von Knochen bei Frakturheilung, Knochenwachstum und für die Aufrechterhaltung des Blut-Calcium-Spiegels benötigt. Osteoklasten heften sich mit ihrer Zellmembran in Form eines Bürstensaums an den abzubauenden Knochen und bilden Resorptionslakunen bzw. Howship´sche Lakunen. Dort wird die Knochenmatrix

demineralisiert und organische Anteile durch Enzyme abgebaut [21]. Durch Protonenpumpen schaffen Osteoklasten hierbei ein saures Milieu, welches die Lösung der Mineralsalze sowie die Aktivität lysosomaler Enzyme begünstigt. Abgebaute Bestandteile des Knochens werden durch die Osteoklasten aufgenommen, an der den Resorptionsarealen gegenüberliegenden Seite in den Extrazellularraum abgegeben und stehen dort im Rahmen des Remodelings für neue Knochenbildung zur Verfügung [19].

Die extrazelluläre Knochenmatrix besteht zu 65 % aus nichtorganischen und zu 35 % aus organischen Anteilen. Zu den organischen Teilen zählen vor allem Kollagen Typ I sowie nicht-kollagene Proteine wie Glykosaminoglykanen und Glykoproteinen wie Osteocalcin, Osteonektin und Osteopontin [19]. Die anorganischen Anteile setzen sich überwiegend aus Calcium und Phosphat in Form von Hydroxylapatit zusammen. Kollagen Typ I bildet die Lamellen im Lamellenknochen und verleiht dem Knochen seine Zugfestigkeit. Durch die Einlagerung von HA an die Kollagen-Fasern erhält der Knochen seine Kompressionsfestigkeit.

1.1.2 Knochenumbau und Implantateinheilung

Die Implantateinheilung stellt die stabile Verankerung eines Implantats im Knochenlager dar und wird als Osseointegration bezeichnet. Dem zugrunde liegt die Bildung eines direkten Kontakts zwischen Knochen und Implantat, der auch unter funktioneller Belastung bestehen bleibt [22, 23]. Durch das Einbringen eines Implantats kommt es zunächst zu einer Hämatombildung. Durch die Verletzung und Kontinuitätsunterbrechung des Knochens infiltrieren Granulozyten, Monozyten und Mastzellen, es kommt somit zur lokalen Inflammation. Neben entzündungsfördernden Zellen enthält das Hämatom zusätzlich pluripotente Stammzellen [18]. Der Einheilungsprozess erfolgt anschließend in drei Phasen. Die erste Phase, die Osteokonduktion ist definiert als der Prozess des Einwachsens von Kapillaren und perivaskulärem Gewebe aus dem Knochenlager in die dreidimensionale Struktur poröser Implantate. Die pluripotenten Stammzellen differenzieren zu Osteoprogenitorzellen aus [23]. Das Adhärieren und Einwachsen von Zellen wird durch die Oberflächen- und Materialeigenschaften des Implantats beeinflusst [18].

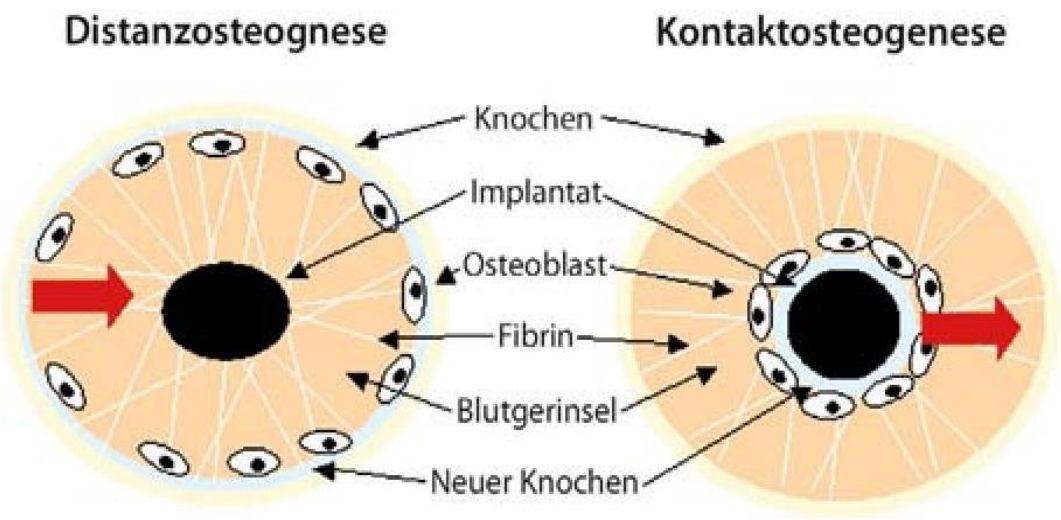


Abbildung 3: Prinzip der Distanz- und Kontaktosteogenese [18].

Hierdurch wird die Ausheilung des durch die Implantation entstandenen Defekts mit Hilfe knöchernen Gewebes eingeleitet. In der zweiten Phase, der *de - novo* - Osteogenese kommt es zur Bildung einer mineralisierten Knochenmatrix auf der Oberfläche des Implantats. Hierbei bestimmt unter anderem die Oberflächentopographie des Implantats, ob eine stabile Verbindung zwischen Knochen und Implantat gebildet werden kann [24]. Während des Knochenumbaus - der dritten Phase – wird der zunächst gebildete Geflechtknochen nach einigen Wochen zu Lamellenknochen umgebaut. Diese Form der Osteogenese nennt sich Kontaktosteogenese, Osteoprogenitorzellen migrieren aus dem Hämatom zum Implantat, differenzieren zu Osteoblasten und bilden dort Knochen, der vom Implantat aus in Richtung des alten Knochenlager wächst [18].

Dagegen wird bei der Distanzosteogenese der Knochen direkt am alten Knochenlager gebildet, um von dort aus in Richtung des Implantats zu wachsen (Abb. 3, links). Die osteogenen Zellen stammen hierbei aus dem alten Knochen. *In vivo* finden beide Formen der Osteogenese parallel statt [25].

Ob die Osteogenese nach Einbringung eines Implantats angeregt wird und eine stabile Osseointegration stattfindet, hängt unter anderem von den osteoinduktiven Eigenschaften des verwendeten Implantats ab. Osteoinduktion bezeichnet einen aktiven Prozess, der sowohl bei Frakturheilung als auch nach Einbringung eines Implantats zu finden ist. Es handelt sich um die Eigenschaft eines Materials oder

Gewebes, Osteogenese anzuregen. Hierbei werden undifferenzierte Zellen angelockt, die zu Präosteoblasten differenzieren, um anschließend Knochen zu bilden [18, 26]. Somit wird durch Osteoinduktion vor allem die Kontaktosteogenese angeregt. Dieser Mechanismus ist verantwortlich für den größten Teil neu gebildeten Knochens. In Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass bereits vor Ort befindliche Osteoblasten alleine nicht in der Lage sind, ausreichend Knochen zur Heilung einer Femurschaftfraktur zu bilden [27]. Im Vergleich zur Osseointegration und Osteokonduktion kann das Phänomen der Osteoinduktion nicht nur periimplantär beobachtet werden, sondern auch in ektopen Geweben, beispielsweise auch in subkutanem Gewebe [23].
Die Oberfläche eines in den Knochen eingebrachten Implantats wirkt als Fremdkörper und beeinflusst die oben beschriebenen Mechanismen und somit auch die Osseointegration des Implantats. Hier spielen sowohl der Werkstoff, die Topographie, Oberflächenladungen, aber auch die chemische Zusammensetzung eine Rolle. Die Wahl des Implantatwerkstoffes sowie Modifikationen der Oberfläche sind demnach wichtige Faktoren, die über Erfolg oder Misserfolg einer Implantation entscheiden können.

1.2 PEEK

1.2.1 Struktur und Eigenschaften

Polyetheretherketon ist ein teilkristalliner Thermoplast aus der Gruppe der Polyaryle, der zum ersten Mal 1978 von englischen Forschern synthetisiert wurde [28]. Es besteht aus aromatischen Kohlenstoffketten, verbunden durch Ketone und Ethergruppen (Abb. 4). Dabei besteht ein PEEK-Molekül aus einer linearen Kette von 100 Monomeren mit einem mittleren Molekulargewicht von 80.000 - 120.000 g/mol. Durch die Faltung einzelner Molekülketten entstehen Lamellenkristalle und größere Sphärolithe, welche sich mit amorphen Bereichen abwechseln. Hierbei hängen sowohl Größe als auch Dichte der Kristalle von den Prozessbedingungen ab. Die Kristallinität liegt in medizinischen Implantaten bei 30-35% [29].

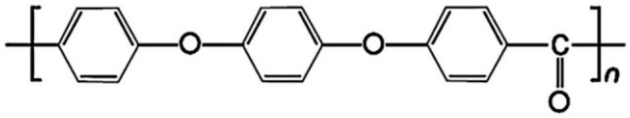


Abbildung 4: Chemische Struktur von PEEK [29].

Vor allem in der Orthopädie und Traumatologie wird PEEK aufgrund außergewöhnlich guter Eigenschaften spätestens seit den 1990er Jahren als potentieller Ersatz für metallische Implantatwerkstoffe (z.B. Titan) diskutiert [15]. Mechanisch zeichnet es sich durch eine Zug- und Biegefestigkeit vergleichbar zu humanem Knochen aus [30]. Einer der entscheidenden Vorteile gegenüber Titan ist in dieser Hinsicht die Verhinderung des so genannten Stress Shieldings. Es tritt auf, wenn Werkstoffe mit unterschiedlicher Steifigkeit miteinander verbunden werden (so z.B. bei Titan und menschlichem Knochen). Nach dem Wolff´schen Gesetz passt sich Knochen in seiner Form und Struktur den gegebenen lokalen Bedingungen an. Unter physischer Belastung nimmt die Knochenmasse zu, bei fehlender Belastung wird der Knochen resorbiert [31]. Titan weist mit einem Wert von 110 GPa ein deutlich höheres Elastizitätsmodul auf als menschlicher Knochen mit 10-30 GPa [32–34]. Daraus folgt, dass ein knöchern fixiertes Titanimplantat einwirkende Kräfte aufnimmt und das periimplantäre Knochenlager entlastet. Gemäß des Wolff´schen Gesetzes nimmt die funktional entlastete Knochenmasse ab, wodurch möglicherweise Implantatversagen durch Lockerung entstehen kann [35, 36]. Unbehandeltes PEEK hingegen hat ein Elastizitätsmodul von 3-4 GPa [37], welches durch die Herstellung von PEEK-Kompositen wie etwa kohlenstoffverstärktem PEEK (CFR-PEEK) an das von menschlichem Knochen beliebig angepasst werden kann.

Die Eignung als Implantatwerkstoff setzt eine entsprechende Biokompatibilität voraus. Diverse Studien belegten, dass PEEK sowohl *in vitro* [38–40] als auch *in vivo* [41, 42] biokompatibel, dabei nicht zytotoxisch und kaum immunogen ist.

Ein weiterer Vorteil gegenüber metallischen Implantaten ist die Röntgentransparenz des Polymers. Metallische Implantate verursachen durch Strahlenundurchlässigkeit Streuartefakte und erschweren somit eine postoperative Röntgenkontrolle bzgl. des korrekten Implantatsitzes [43, 44]. PEEK hingegen ist strahlendurchlässig [37] und

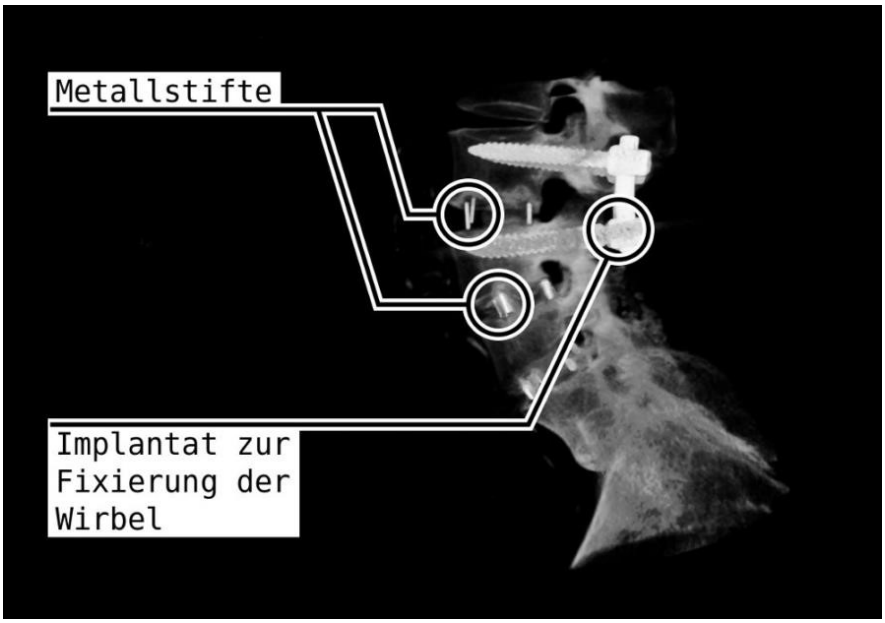


Abbildung 5: µCT fusionierter Wirbelkörper mit PEEK-Implantat und Metallstiften zur eindeutigen Lokalisation der Implantate [33].

erlaubt beispielsweise in der Wirbelsäulenchirurgie eine Kontrolle der knöchernen Fusion der Wirbelkörper im Behandlungsverlauf. Um trotz Strahlentransparenz eine eindeutige Lokalisierung der Implantate zu ermöglichen können kleine Metallstifte in die PEEK-Implantate verbaut werden (Abb. 5). Die Strahlendurchlässigkeit bietet weiterhin einen Vorteil in der Behandlung onkologischer Patienten mit pathologischen Frakturen durch Knochentumore [45]. Kommt es nach Versorgung einer solchen Fraktur zu einem Tumorrezidiv in diesem Bereich bedarf es gegebenenfalls einer Bestrahlung, deren Erfolg von der präzisen Strahlenapplikation abhängt. Dies ist nur dann sicher möglich, wenn eingesetztes Fremdmaterial strahlendurchlässig ist.

Durch die aromatische Struktur ist PEEK beständig gegenüber Gammastrahlung. Bei der Bestrahlung mit Dosen von bis zu 600 kGy entstehen zwar Makroradikale, welche allerdings innerhalb von 20 Minuten rekombinieren [46]. Zu Zersetzung und Quervernetzungen kommt es erst ab Dosen von 10 MGy, sodass eine in der Medizin übliche Sterilisation von Medizinprodukten bei 25-40 kGy ohne Bedenken durchführbar ist [47].

Neben den erwähnten Vorteilen weist das Polymer eine Eigenschaft auf, die eine stabile Osseointegration erschwert und somit den Hauptgrund für den bis dato limitierten Einsatz als Implantatwerkstoff darstellt. Die Oberfläche von PEEK verhält

sich bioinert [15]. Das bedeutet, dass es keine direkte Verbindung zu biologischem Gewebe zulässt und somit eine stabile ossäre Integration erschwert. Durch eine hydrophobe Oberfläche und eine geringe Oberflächenenergie resultiert eine limitierte Adhäsion von Proteinen wie Fibronektin und Zellen [48]. Hydrophile Oberflächen und solche mit einer hohen Oberflächenenergie gelten dagegen als förderlich für Zelladhäsion [49]. Außerdem könnten Matrixproteine wie Albumin, die die Zelladhäsion nicht unterstützen deutlich besser durch die hydrophobe Oberfläche adsorbiert werden [50].

Durch die limitierte Protein- und Zelladhäsion werden nicht ausreichend direkte Knochen-Implantat-Kontakte gebildet. Ohne direkte Verankerung im Knochen kommt es zu Bewegungen des Implantats und in der Folge wird eine fibrotische Kapsel um das Implantat gebildet [51, 52]. Daher kann durch die bioinerten Oberflächeneigenschaften eine gestörte Osseointegration mit Implantatversagen resultieren.

1.2.2 Einsatz in der Medizin

Seit Ende der 1990er Jahre werden Wirbelsäulen-Cages aus PEEK verwendet, um bei degenerativen Bandscheibenerkrankungen eine knöcherne Wirbelkörperfusion herbeizuführen. Der erste PEEK-Cage, der 2001 erstmalig von der FDA zugelassen worden war, ist der Brantigan Cage aus CFR-PEEK. Es folgten weitere Cages aus PEEK, die in diversen Studien gute klinische Ergebnisse erzielten [53–59]. Chou et al. (2006) beobachteten bei PEEK-Cages höhere Fusionsraten der Wirbelkörper als bei Titan-Cages [60]. Im Jahr 2017 bestanden 68% der in den USA verbauten Wirbelsäulen-Cages aus PEEK oder PEEK-Kompositen (Abb. 6) [12].

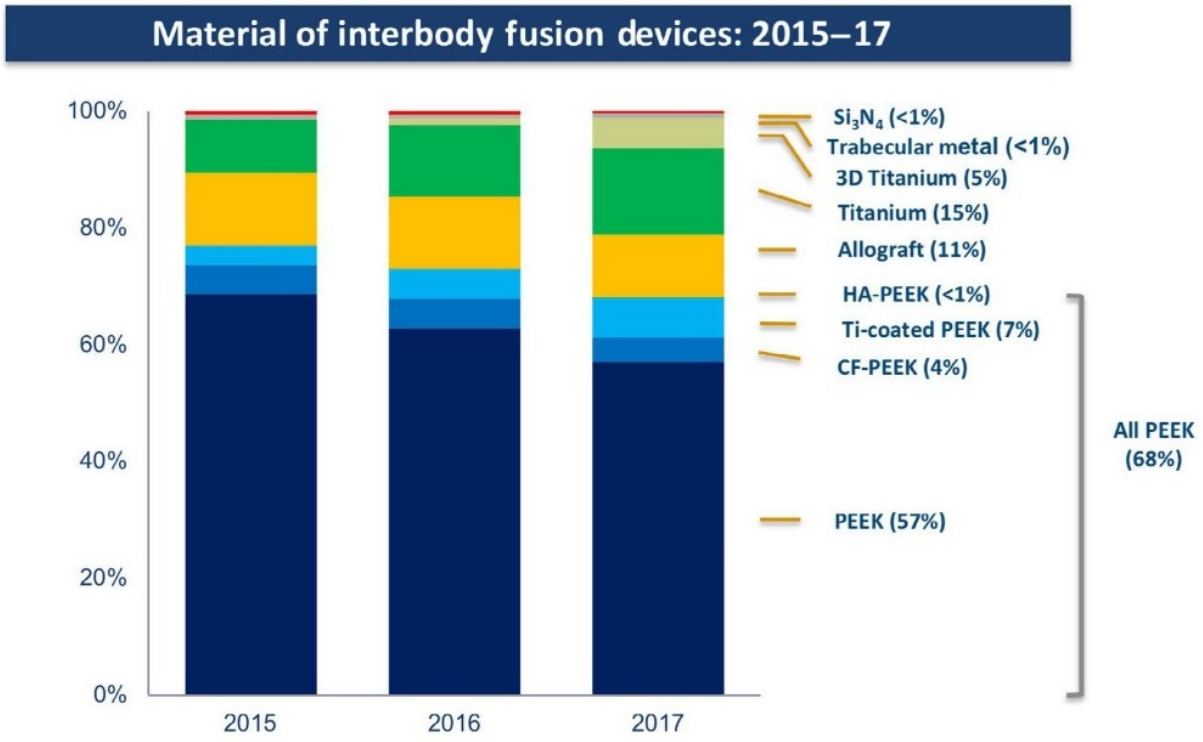


Abbildung 6: Verwendete Materialien in WS-Cages in den USA, 2015-2017 [12].

Auch in der Orthopädie gibt es potentielle Einsatzgebiete für PEEK, vor allem im Feld der Hüftendoprothesen. Trotz guter klinischer Ergebnisse von Implantaten aus Titan birgt das Stress-Shielding vor allem bei der Behandlung junger, sportlich aktiver Patienten ein Risiko für Prothesenversagen. Ein durch Stress-Shielding induzierter Knochenabbau kann einen späteren Prothesenwechsel erschweren und unter Umständen eine suffiziente Verankerung der neuen Prothese behindern. Daher wird seit Jahrzehnten am isoelastischen Hüftstiel gearbeitet. Durch einen Hüftstiel, der eine ähnliche Steifigkeit wie der periimplantäre Knochen aufweist, soll der Knochen vermehrt belastet werden und somit der Stress-Shielding-induzierte Knochenabbau reduziert bzw. verhindert werden. Der Epoch-Hüftstiel (Zimmer Biomet, Warsaw, Indiana, USA), ein Makrokomposit aus einem Kern aus einer Kobalt-Chrom-Legierung, einer Zwischenschicht aus Polyetherketonetherketonketon (PEKEKK) und einer Beschichtung aus Titan, zeigte in diversen Studien über Zeiträume von bis zu sieben Jahren gute histologische, radiologische und vor allem klinische Ergebnisse [61–63]. Vor allem in den kürzeren Beobachtungszeiträumen wurde eine Reduktion des Stress Shieldings festgestellt. Wie auch beim Brantigan Cage scheiterte die erfolgreiche Kommerzialisierung an Problemen mit Zulieferern des Polymers [64].

Im Bereich der Traumatologie konnten in den vergangenen Jahren erste erfolgversprechende Ergebnisse für die Versorgung von Frakturen des proximalen Humerus [65–67], des lateralen Malleolus [68, 69], des Femur [70] und des distalen Radius [71, 72] mit PEEK-Devices vorgelegt werden.

Auch in der kraniofazialen Chirurgie hat das Polymer Einzug gefunden. In verschiedenen Studien zeigten sich bei Kranioplastiken ein gutes klinisches Outcome für PEEK-Implantate [73–77]. Gegenüber anderen Implantaten zeigten sie sich bezüglich des Auftretens von Komplikationen, Infektionen und der Patientenzufriedenheit überlegen [78].

1.2.3 Modifikationen zur Verbesserung der Osseointegration

Trotz der genannten Eigenschaften ist die kommerzielle Verwendung von PEEK bisher beschränkt. Hauptgrund dafür ist das genannte bioinerte Verhalten des Polymers. Verschiedene Möglichkeiten der Oberflächenmodifikation sollen dennoch eine belastungsstabile Osseointegration ermöglichen. Hierzu werden physikalische und chemische Modifikationen genutzt, aber auch Komposite und Beschichtungen zeigen erfolgversprechende Ergebnisse.

Wie in Abschnitt 1.2.1 beschrieben weist PEEK durch die geringe Oberflächenenergie eine geringe Benetzbarkeit auf. Dies reduziert die Proteinadsorption und Zelladhäsion [50, 52, 79]. Bei physikalischer Behandlung kann die Oberfläche durch Plasmen modifiziert werden. Je nach Prozessgas entstehen in dem gasförmigen Gemisch neben Elektronen, Ionen, neutralen Teilchen und Molekülen auch Radikale oder funktionelle Gruppen. Durch Wechselwirkung dieser Spezies mit der PEEK-Oberfläche entstehen offene Bindungen, welche auch mit chemischen funktionellen Gruppen quervernetzen können. Dies wirkt sich unter anderem günstig auf die Zelladhäsion aus [80]. Durch die geringe Eindringtiefe einer Plasmabehandlung bleiben die hervorragenden mechanischen Eigenschaften des Festkörpers erhalten.

Für eine chemische Behandlung bedient man sich meist nasschemischer Verfahren. Entstehende funktionelle Gruppen wie PEEK-OH, PEEK-NH_2 oder PEEK-NCO ermöglichen beispielsweise eine chemische Bindung mit Hydroxylapatit. Verglichen

mit unbehandeltem PEEK zeigten Noiset et al. (1999) eine verbesserte kovalente Bindung von Fibronektin am chemisch behandelten PEEK [81]. Carboxyliertes PEEK sowie aminiertes PEEK förderten Wachstum und Zelladhäsion von $CaCo_2$-Zellen aus einem menschlichen Adenokarzinom des Kolons [82].

Ein weiterer Ansatz, die Bioaktivität von PEEK zu erhöhen ist die Herstellung von Kompositen. Unter Kompositen bzw. Verbundwerkstoffen versteht man Werkstoffe, die aus mindestens zwei Materialien bestehen und deren Eigenschaften verbinden. So kann in einer festen und biokompatiblen PEEK-Matrix ein bioaktiver Werkstoff eingebettet sein. Wie auch bei der Beschichtung von PEEK werden hier vor allem bioaktive Calciumphosphate wie z.B. HA verwendet. Nach diesem Konzept stellten bereits in den 1980er Jahren Bonfield et al. (1981) einen Kompositen aus Polyethylen und HA, das so genannte HA-reinforced high-density polyethylene (HDPE) her, welches auch klinisch erfolgreich eingesetzt wurde [83, 84]. Die Erkenntnisse dieser Forschungen konnten auf das Gebiet der Polyaryletherketone übertragen werden, und HA-verstärktes PEEK findet nach erfolgreichen Studien erste klinische Einsätze [85].

Die Herstellung poröser PEEK-Implantate stellt einen weiteren Versuch dar, die Osteokonduktivität von PEEK zu steigern. Eine poröse Matrix verbessert zwar nicht die chemische Bindung des Knochens am PEEK, doch ein Einwachsen des Knochens in die Porenstruktur kann zu einer besseren mechanischen Verankerung führen. In einem Schaf-Modell konnte gezeigt werden, dass die Porosität keinen Nachteil in der Biokompatibilität darstellt. Höhere BIC-Werte sowie gesteigerte mechanische Festigkeit lassen auf eine erhöhte Osteokonduktivität schließen [86]. Im Jahr 2017 wurde COHERE, ein Wirbelsäulen-Cage der Firma NuVasive (Atlanta, GA, USA) durch die FDA für den Einsatz in der zervikalen Wirbelsäulen-Chirurgie zugelassen [87]. Dieser Cage zeichnet sich durch poröses PEEK an Ober- sowie Unterseite aus . So berichteten Torstrick et. al (2017) von über 100 Wirbelkörperfusionen mit COHERE Cages ohne Implantat-bedingte Komplikation [88].

Eine weitere etablierte Methode, die Biokompatibilität von PEEK zu steigern, ist die Oberflächenbeschichtung mit osteokonduktiven Materialien [33]. Dadurch soll der direkte Knochen-Implantat-Kontakt gefördert werden, indem eine raue Oberfläche mit osteokonduktiven Eigenschaften erzeugt wird. Somit soll eine fibröse Einhüllung des Implantats verhindert werden [89]. Es gibt viele verschiedene Techniken zur Oberflächenbeschichtung, die jeweils verschiedene Vor- und Nachteile mit sich

bringen. Essentiell ist hierbei, dass die Beschichtung fest mit dem Implantat verbunden ist. Ein Ablösen der Beschichtung würde erneut die bioinerte Oberfläche des PEEK freilegen, was zu einer fibrösen Einhüllung führen könnte. Außerdem könnte ein Ablösen Gewebeentzündungen und Knochenresorption einhergehend mit der Bildung von Riesenzellen zur Folge haben [90, 91].

Die verschiedenen Beschichtungsmethoden umfassen thermische oder nichtthermische Verfahren. Bei thermischen Verfahren wird das Beschichtungsmaterial entweder aufgeschmolzen oder per Jet auf das Implantat aufgetragen. Zu den nichtthermischen Verfahren zählen Tauch- sowie Sprühbeschichten.

In bisherigen Ansätzen wurden unter anderem Titandioxid, Calciumphosphat, Strontium oder diamantartiger Kohlenstoff als Beschichtungsmaterial verwendet. Das am häufigsten genutzte Biomaterial ist Hydroxylapatit, das große Ähnlichkeit zum humanen anorganischen Knochenapatit aufweist [44]. *In vivo* Studien belegten die Biokompatibilität sowie den osteokonduktiven Charakter von HA [92, 93]. Ein gängiges Verfahren ist das Plasmasprühen von HA, wobei ein Plasmajet dem Aufschmelzen und Auftragen des HA-Pulvers dient [94]. In zahlreichen Studien wurde allerdings eine schlechte Haftfestigkeit dieser Beschichtung nachgewiesen, die zu einer Separation von Implantat und Beschichtungsmaterial führte [90, 91, 95]. Lee et al. (2013, 2017)berichten von einer erfolgreichen HA-Beschichtung, welche über ein Cold-Spray-Verfahren aufgetragen wurde und in *in vivo* Untersuchungen im Minipig-Modell signifikant höhere Werte für den Bone-to-Implant-Contact (BIC) als eine Kontrollgruppe mit nicht beschichteten Implantaten erzielten [52, 79].

1.3 NanoBone®-Technologie

Grundlage für das in dieser Arbeit verwendete Beschichtungsmaterial ist die für Knochenaufbaumaterialien genutzte NanoBone®-Technologie (NB). Es besteht aus einer schwach vernetzten und hochporösen Silicagelmatrix, in die synthetisches, nanokristallines Hydroxylapatit eingebettet ist [96]. Dieses synthetische HA ist morphologisch identisch zu biologischem HA [97]. Für verschiedene Anwendungen im Bereich der Dentalmedizin und Orthopädie existieren mehrere Produktvarianten in

Form von Granulat, Pasten oder als formstabiler Block. Die Wirkung des Biomaterials beruht unter anderem auf einem frühen Austausch dieser Silica-Matrix durch eine autologe, organische Matrix unter Erhalt der Struktur [98, 99]. Dieser sogenannte Matrixwechsel beginnt nach dem Erstkontakt mit Blutbestandteilen. In einer Tierstudie am Minipig-Modell zeigten Götz et al. (2008) den abgeschlossenen Matrixwechsel nach 5 Wochen. Die organische Matrix bestand vor allem aus Kollagenfasern sowie den am Knochenaufbau beteiligten Proteinen Osteopontin, Osteocalcin sowie BMP-2 [100]. Im Zuge des Remodelling-Prozesses wird NB durch Osteoklasten resorbiert, parallel wird neuer Knochen durch Osteoblasten gebildet. Je nach Defektgröße kann der Matrixwechsel auch deutlich schneller ablaufen. In einer weiteren Studie zeigten Xu et al. (2009) den Austausch der SiO_2-Matrix je nach Defektgröße in einem Rattenmodell innerhalb weniger Tage [101]. Die durch die Matrixwechsel entstehende körpereigene Matrix besteht aus Kollagen, Glykoproteinen sowie knochenspezifischen Proteinen [99, 100]. Es wird vermutet, dass diese Proteine die Migration sowie Differenzierung von Osteoprogenitorzellen fördern. In *in vivo* Versuchen an Mäusen zeigten Abshagen et al. (2008), dass NB eine gute Biokompatibilität aufweist, keine Entzündungsantwort im Gewebe verursacht sowie in der Lage ist, Angiogenese zu induzieren [102].

Adam (2013) entwickelte ein Beschichtungsverfahren, um die Effekte von NB auf Oberflächen von Implantaten zu übertragen [103]. Um die Wirkung der Beschichtung zu testen, erfolgte in einer experimentellen Studie an Kaninchen der Vergleich zwischen nicht beschichteten Titanimplantaten und solchen, die mit einer NB-Beschichtung versehen waren. Die beschichteten Implantate zeigten in allen Zeiträumen signifikant erhöhte BIC-Werte, sodass von einer schnelleren und verbesserten Osseointegration durch eine NB-Beschichtung ausgegangen werden kann.

Keuer (2014) konnte durch eine Beschichtung mit NB die Osseointegration von PEEK-Implantaten verbessern [33]. Dabei erfolgte die Beschichtung der Modellimplantate in einem gekoppelten Pulverbeschichtungsverfahren. Durch Erhitzung des Polymers über dessen Schmelzpunkt wurden Granulatkörner in die PEEK-Oberfläche eingeschmolzen. Daraus ergab sich ein Interface zwischen Polymer und Knochenaufbaumaterial, das den vollständigen Matrixwechsel der Beschichtung und die damit verbundene Freilegung der bioinerten Oberfläche verhindern sollte. Der

biologische Effekt der Beschichtung wurde dabei in einem Kaninchenmodell getestet, in dem sich eine verbesserte Zelladhäsion auf der Oberfläche und somit erhöhte Anbindung des Knochens an die beschichteten Implantate zeigte. Sowohl die Formgebung und Herstellung der Implantate als auch der Beschichtungsprozess der Implantate führten in der Summe zu einigen Mängeln der Beschichtung, die die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse einschränkte und somit Forschung für optimierte Beschichtungsparameter erforderlich machte.

1.4 Zielsetzung und Fragestellungen der Arbeit

Auf Basis der Vorarbeiten von Adam (2013) und Keuer (2014) soll in der vorliegenden Arbeit die Osseointegration von Silica-Hydroxylapatit-beschichteten PEEK-Implantaten getestet werden. Die Besonderheit der untersuchten Implantate liegt dabei in der Herstellung eines Interfaces zwischen Polymer und Beschichtungsmaterial, welches durch Aufschmelzen der Implantatoberfläche im Anschluss an den Beschichtungsprozess realisiert wurde. Das aufgeschmolzene PEEK infiltriert das Beschichtungsmaterial und füllt dessen offenporige Struktur. So entsteht eine dünne Kompositschicht zwischen Polymer und Beschichtungsmaterial, die beide formschlüssig verbindet. Das Interface soll auf diese Weise den kompletten Umbau des Knochenersatzmaterials im Bereich des Interfaces verhindern und eine Freilegung der reinen PEEK-Oberfläche verhindern. Statt der bioinerten Oberfläche, die eine stabile Implantateinheilung verhindert, soll die chemische und strukturelle Modifikation durch das Interface eine langfristig stabile Verankerung ermöglichen. Hierdurch soll die Osteokonduktivität des Implantats gesteigert und somit die Interaktion zwischen Zellen und Implantatoberfläche verbessert werden, wodurch eine zeitnahe und belastbare Osseointegration stattfinden soll. Die Herstellung des Interfaces hat weiterhin den Hintergrund, dass die bereits etablierte Beschichtung von NB ohne Interface nicht ausreichend auf der PEEK-Oberfläche adhäriert, um den Implantationsvorgang unbeschadet zu überstehen [104]. Die durch das Interface entstehende formschlüssige Verbindung zwischen Beschichtungsmaterial und Implantat soll hier eine ausreichende Haftung ermöglichen. Die über dem Interface verbleibende Schicht aus Knochenersatzmaterial soll im zeitlichen Verlauf degradiert werden und dabei das Bone-Remodelling und somit die Osseointegration

unterstützen. Zur Überprüfung der biologischen Wirkung der beschriebenen NB-Beschichtung wird eine tierexperimentelle Studie durchgeführt, in der qualitative und quantitative histologische Parameter sowie biomechanische Versuche ausgewertet werden.

Aus dieser Zielsetzung heraus ergeben sich folgende Leitfragen für diese Arbeit:

1. Wie wirkt sich die Kombination aus nanoporösem Interface und Knochenaufbaumaterial in der Beschichtung auf die postoperative Heilung sowie die Bildung einer suffizienten Knochen-Implantat-Verbindung von PEEK-Implantaten aus?

2. Kann die beschriebene Beschichtung die bioinerten Eigenschaften von PEEK kompensieren, und eine belastungsstabile Osseointegration erzeugen? Ist die biologische Wirkung der Oberflächenmodifikation im Sinne des Interface nachhaltig und dauerhaft?

2. Material und Methoden

2.1 Herstellung der Implantate und Beschichtung

Das Design der in dieser Arbeit verwendeten Implantate wurde an die Form von Dentalimplantaten und die Voruntersuchungen von Keuer und Adam angelehnt [33, 103]. Dabei ist das in Abb. 7 skizzierte Design in Form eines Kegelstumpfes darauf ausgelegt, einen praktikablen Beschichtungsprozess mit gleichmäßiger Beschichtung zu ermöglichen sowie den Anforderungen der durchgeführten biomechanischen Auszugsversuchen gerecht zu werden [105]. Die Implantate wurden mit einem Innengewinde versehen. Dieses diente der allgemeinen Arretierung des Implantats während der Herstellung sowie der tierexperimentellen Studie und der biomechanischen Versuche.

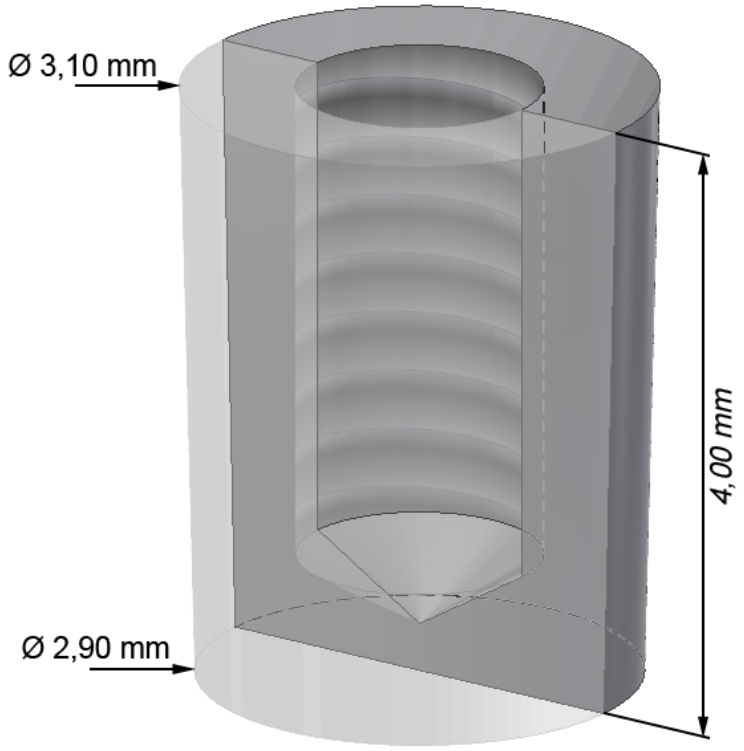


Abbildung 7: Skizze der verwendeten Implantate [105].

Das für die Implantate verwendete PEEK (VESTAKEEP® i4, Evonik Degussa GmbH, Marl, Deutschland) wurde laut Hersteller speziell für dauerhaft implantierbare Medizinprodukte entwickelt und erfüllt die ASTM F2026 [106]. Die Biokompatibilität wurde anhand der ISO 10993-1-Empfehlungen für dauerhaften Gewebe/Knochen-Kontakt getestet [106].

Aus diesem Material wurden die Implantate durch Zerspanung hergestellt und anschließend manuell in heißem, basischem Wasser gereinigt sowie mehrmals mit entionisiertem Wasser und Ethanol gespült. Frankenberger (AG Nanomaterialien, Institut für Physik, Universität Rostock) untersuchte die Topographie und chemische Zusammensetzung der Implantatoberfläche mittels Rasterelektronenmikroskopie. Dabei konnte nachgewiesen werden, dass durch den Herstellungsprozess eine glatte Oberfläche entstanden war, welche keine Kontamination durch Abrieb der Werkzeuge enthielt [105].

Die Herstellung der Beschichtung erfolgte angelehnt an Vorarbeiten von Adam et al. [98] und Frankenberger [104]. Die Beschichtungsdispersion basiert auf der NanoBone®-Technologie und besteht aus einem SiO_2-Sol, nanokristallinem HA, sowie Ethanol (HA/SiO_2 = 61/39).

Der Beschichtungsprozess erfolgte durch die AG Nanomaterialien des Physikalischen Instituts, Universität Rostock via Spin-Spray-Coating, wobei das Implantat durch den Sprühnebel einer Zweistoffdüse entlang der Implantat-Längsachse rotierte, während die Beschichtungsdispersion auf das Implantat gesprüht wurde. Die Rotationsgeschwindigkeit während des Beschichtungsvorgangs lag bei U = 300 min^{-1} bei einer Beschichtungszeit t_B = 0,5 s. Adam konnte in Vorversuchen zeigen, dass sich bei längeren Beschichtungszeiten durch die höhere Schichtdicke Trocknungsrisse bilden können, welche durch die gewählte Beschichtungszeit vermieden werden sollen [103]. Ölfreie und trockene Druckluft eines Dentalkompressors wurde während des Trocknungsprozesses genutzt, um das Ethanol schneller zu verdampfen. Während des Trocknungsprozesses verdunstet das Ethanol, sodass die SiO_2-Primärteilchen in der noch flüssigen Beschichtungsdispersion vernetzen und eine nanoporöse SiO_2-Matrix bilden, in die die HA-Kristalle eingebettet sind. Beschichtungs- und Trocknungsprozess wurden mehrmals hintereinander durchgeführt (Iterationen n=6), um die gewünschte Schichtdicke des Beschichtungsmaterials herzustellen und gleichzeitig Trocknungsrisse zu vermeiden. Das gewählte Verfahren mit mehreren

Durchgängen und dadurch mehreren dünnen Schichten übereinander gewährleistet eine gleichmäßige Verteilung des Beschichtungsmaterials. Jede Lage der Beschichtung kann dabei mögliche Unebenheiten der darunterliegenden Schicht ausgleichen und somit eine vollständig geschlossene Beschichtung gewährleisten.

Im Anschluss an den Beschichtungsprozess führte Frankenberger [105] an 120 Positionen Messungen der Schichtdicke durch und zeigte dabei, dass die Beschichtung homogen ist und eine mittlere Dicke von 4,3 ± 0,8 µm aufwies.

Nach dem Beschichtungsvorgang erfolgte die Erzeugung des Interfaces, das die Freilegung der PEEK-Oberfläche während der Einheilung verhindern und damit elementar für die Wirkweise der Beschichtung sein soll. Hierfür wurde die Oberfläche des Implantats per Heißluftstrom über den Schmelzpunkt des Polymers erhitzt. Angelehnt an die vom Hersteller angegebene optimale Verarbeitungstemperatur wurde eine Heißlufttemperatur von etwa 400°C verwendet [105]. Das aufgeschmolzene PEEK drang mit den nun viskosen Fließeigenschaften in die poröse Struktur der Beschichtung ein, erstarrte, nahm so die Porenstruktur des Beschichtungsmaterials an und bildete ein Interface zwischen Polymer und Beschichtung. In Aufnahmen am Rasterelektronenmikroskop konnte gezeigt werden, dass das Polymer dabei nicht die gesamte Beschichtung durchdrungen hatte. Somit kann die auf dem Interface verbliebene Schicht aus reinem Beschichtungsmaterial wie nach dem ursprünglichen Mechanismus vorgesehen als Knochenersatzmaterial wirken. Dieses Ergebnis bestätigte er mit einer Elementaranalyse am Querschnitt eines beschichteten Implantats, in der er drei Schichten nachweisen konnte: An der Oberfläche eine Schicht reinen Beschichtungsmaterials, im Inneren des Implantats reines PEEK und dazwischen mit kontinuierlichem Übergang zwischen den beiden Materialien das Interface mit einer Dicke von 2,0 ± 0,4 µm [105].

Die fertigen Implantate wurden in einem Vakuumheizschrank in Glasvials 24 Stunden bei 140 °C sterilisiert und anschließend keimdicht verschlossen.

2.2 Versuchstiere, Operation und Aufarbeitung der Proben

Die tierexperimentelle Studie zur Untersuchung des biologischen Effektes der Implantat-Beschichtung (Tierversuchsantrag: LALLF M-V/TSD/7221.3-1-040/18)

erfolgte an 36 männlichen Wistar-Ratten. Die Tiere wurden während des Versuchs in der Zentralen Tierversuchshaltung (Rudolf-Zenker-Institut für Experimentelle Chirurgie, Universitätsmedizin Rostock, Rostock) in einem 12 / 12 Stunden Hell-Dunkel-Zyklus in Typ III-Käfigen gehalten. Zum Zeitpunkt der Operation betrug das Körpergewicht der 6-12 Monate alten Ratten im Mittel 578,4 g ± 55,6 g. Die Hälfte der Tiere diente der histologischen und histomorphometrischen Untersuchungen, an den anderen 18 Tieren wurden biomechanische Auszugsversuche durchgeführt (in Kooperation mit der AG Nanomaterialien des Physikalisches Institut, Universität Rostock, Rostock).

Für beide Teilaspekte des Tierversuchs wurden die Tiere in drei gleich große Gruppen (jeweils n = 6) aufgeteilt, die sich voneinander durch den Zeitpunkt der Opferung (d = 14, 28 bzw. 56 Tage) und somit in der Dauer der Beobachtungszeit unterschieden. Bezogen auf den schnelleren Stoffwechsel sowie die kürzere Lebensspanne der Ratten entsprechen die untersuchten Zeiträume auf den Menschen übertragen etwa einem Zeitraum von ca. 1,35 Jahren, 2,7 Jahren bzw. 5,4 Jahren [107, 108] . Jedes Tier wurde beidseitig operiert und erhielt einem Split-Side-Modell entsprechend je ein beschichtetes und ein nicht beschichtetes Implantat. Die Auswahl, welches Implantat in welchem Femur implantiert wurde, wurde im Vorfeld der Versuche per Randomisierung (computergestützt erstellte Liste) festgelegt.

Die chirurgischen Eingriffe wurden unter aseptischen Bedingungen durchgeführt. Präoperativ wurden die Ratten zunächst gewogen und dann mit 0,8 l/min Sauerstoff und 2,5% Isofluran (Forane®, AbbVie Inc., North Chicago, Illinois, USA) in einem eigens dafür vorgesehenen luftdichten Behälter narkotisiert. Zur Aufrechterhaltung der Sedierung während der Operation erfolgte die Gabe eines Gasgemisches von 0,8 l/min Sauerstoff und 2% Isofluran per Inhalator.

Um eine Auskühlung der Tiere während der Operation zu verhindern, wurden die Tiere auf einer Wärmeplatte auf dem Rücken liegend gelagert. Zum Schutz der Augen wurde Corneregel® Augengel (Bausch & Lomb, Dr. Gerhard Mann chem.-pharm. Fabrik GmbH, Berlin, Deutschland) aufgetragen. Analgesiert wurde durch subkutane Injektion von 0,2 ml eines Carprofen/Natriumchlorid-Gemisches (Rimadyl®, Zoetis, Berlin, Deutschland). Die narkotisierten und analgesierten Ratten wurden direkt präoperativ im Operationsgebiet rasiert. Nach Desinfektion des Operationsgebietes mit Povidon-Iod (Betaisodonna, ACA Müller/ADAG Pharma AG, Gottmadingen, Deutschland)

erfolgte ein lateraler Hautschnitt am Knie, Haut und Muskulatur wurden per Elevatorium gelöst, sodass der Condylus femoris lateralis frei lag. Der Femur wurde mit einer Klemme fixiert und es wurde per Handstück mithilfe eines dentalen Implantatbohrers (Pilotbohrer G1001, Hager & Meisinger, Neuss, Deutschland) ein standardisierter Knochendefekt von 3 mm Durchmesser und 4 mm Tiefe in den Condylus femoris lateralis gebohrt. Dies wurde unter kontinuierlicher Kühlung mit 0,9%iger NaCl-Spülung durchgeführt. In diesen Defekt wurde das Implantat eingebracht, sodass der Rand des Implantats mit der Knochenkante abschloss (Abb. 8-10). Die Muskulatur über dem Implantat wurde per Einzelknopfnähten mit resorbierbaren Fäden (Vicryl 4-0, Ethicon, Bridgewater, New Jersey, USA) verschlossen und darüber die Haut per fortlaufender überwendlicher Naht (Vicryl 4-0, Ethicon, Bridgewater, New Jersey, USA). Abschließend erfolgte die erneute Desinfektion des Operationsgebietes mit Povidon-Iod (Betaisodonna, ACA Müller/ADAG Pharma AG, Gottmadingen, Deutschland) sowie die Anlage eines Sprühpflasterverbandes (OPSITE®, Smith & Nephew GmbH, Hamburg, Deutschland). In den ersten drei postoperativen Tagen erhielten die Tiere als Analgesie pro Tag 10 Tropfen Novaminsulfon (ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland) / 100 ml Trinkwasser.

Abbildung 8: Vorgebohrtes Loch im Condylus lateralis femoris.

Abbildung 9: Implantat im Knochen

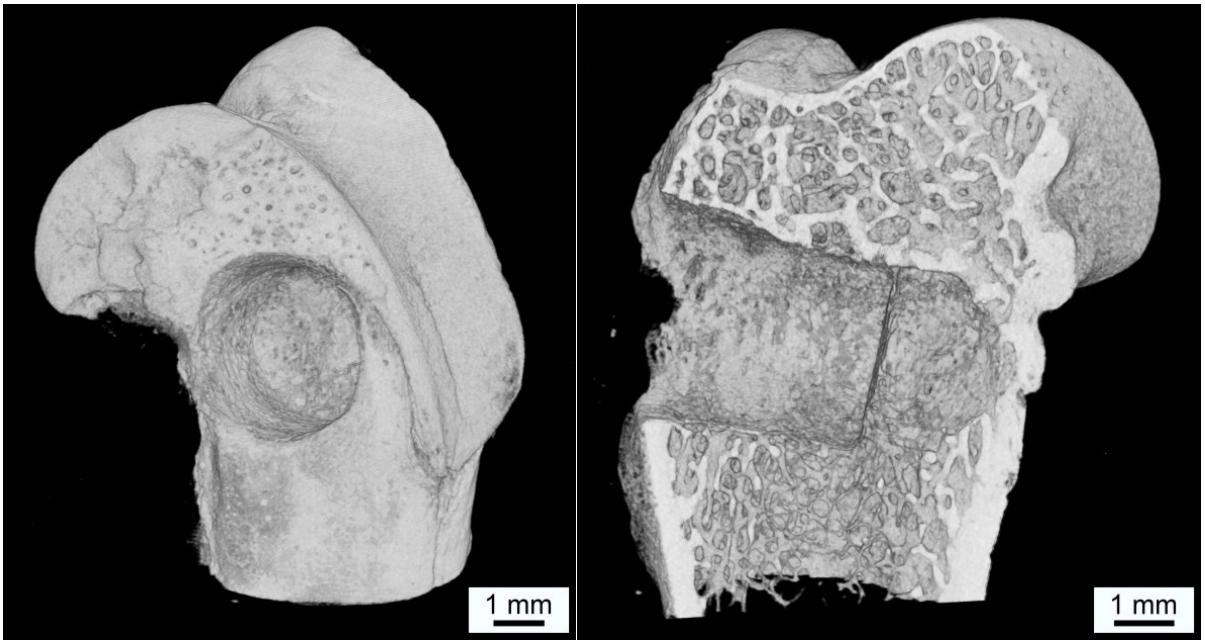


Abbildung 10: Die µCT-Aufnahme eines linken distalen Femurs nach 4 Wochen Versuchsdauer zeigt den von lateral gesetzten zylindrischen Defekt [105]. Aufgrund der Röntgentransparenz von PEEK ist das Implantat nicht sichtbar.

Die Versuchstiere wurden per Begasung mit Kohlendioxid und anschließendem Genickbruch geopfert. Direkt nach Opferung wurden beide Femora der Ratten entnommen und in 4% Formaldehyd-Lösung konserviert. Die konservierten Proben wurden im Anschluss durch das Histologie-Forschungslabor der Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie der Universitätsmedizin Rostock weiterverarbeitet. Zunächst wurde anhand des Protokolls der Arbeitsgruppe

Biomedizinische Forschung mit Technovit 9100 (Kulzer Technik, Wehrheim, Deutschland) eingebettet. Aus den in Kunststoff eingebetteten Präparaten wurden Säge-/Dünnschliffe nach Donath hergestellt [109]. Diese wiesen eine Dicke von etwa 35-40 µm auf und wurden anschließend mit Giemsa und Toluidinblau gefärbt. In dieser Färbung zeigen sich Knochen, Bindegewebe, Kollagen und Osteoid unterschiedlich blau bis violett, Knorpelmatrix stellt sich rotviolett dar und verkalkte Knorpelmatrix dunkelblau. Die Schliffe wurden anschließend digitalisiert (Mikroskop: Zeiss Imager.M2, Kamera: Zeiss AxioCam Mrc 5, Objektiv: Zeiss EC Plan NeoFluar 20x, Software: Zeiss Zen 2.0 (blue)).

2.3 Histomorphometrische Untersuchung

Die Bearbeitung und Auswertung der histologischen Bilder erfolgte mit Hilfe der Software Photoshop CS6 (Adobe Inc., San José, Kalifornien, USA). Um den Prozess der Osseointegration beurteilen zu können, wurden die Bilder zunächst qualitativ bewertet, quantitativ wurden der Bone-to-Implant-Contact (BIC) sowie die anteilige Knochenmasse des periimplantären Knochenlagers bestimmt. In die quantitative Auswertung wurden die Flächen seitlich der Implantate einbezogen. Im oberen Teil des Implantats (Durchmesser 3,1 mm) lag Pressfit-Passung vor, im unteren Teil (Durchmesser 2,9 mm) lag keine Pressfit-Passung vor.

2.3.1 Knochenfläche periimplantäres Lager

Um Effekte des Interfaces zwischen Implantat und NB-Beschichtung auf die Osteogenese während der postoperativen Heilung zu beobachten, wurde in fest vordefinierten Bereichen um das Implantat herum der prozentuale Flächenanteil von Knochen gemessen.

Als periimplantäres Lager wurden die Flächen seitlich des Implantats in einem Abstand von 500 µm definiert. Dieser Bereich wurde relativ groß gewählt, um auch entfernte Effekte erfassen zu können. Um zu differenzieren, in welcher Distanz zum Implantat Osteogenese stattfindet, wurde das periimplantäre Lager weiterhin in einen Bereich

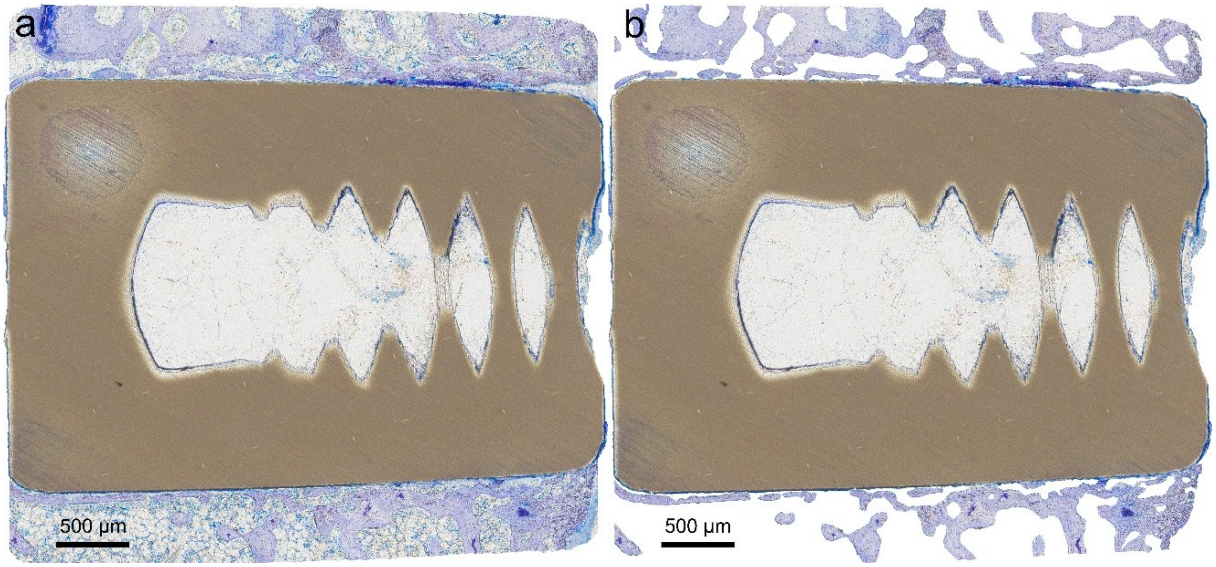


Abbildung 11: Bestimmung der anteiligen Knochenfläche im periimplantären Lager. a) Definition des 500 µm-Bereiches. b) manuelle Differenzierung des knöchernen Gewebes.

von 100 µm sowie 250 µm Distanz vom Rand der Implantate unterteilt. Innerhalb dieser drei Bereiche wurde manuell zwischen Knochen und nichtknöchernem Gewebe differenziert (Abb. 11) . In der Bildanalyse-Software Photoshop wurden anhand dieser Gewebedifferenzierung einzelne Ebenen extrahiert. Anhand der Pixelzahlen der einzelnen Ebenen ließ sich der Anteil von Knochen im periimplantären Lager bestimmen.

2.3.2 Bone-to-Implant-Contact (BIC)

Als quantitatives Maß für die Osseointegration von Implantaten hat sich der BIC etabliert [110–112]. Dies beruht auf der Annahme, dass die Stabilität des Implantats vor allem durch Bereiche gewährleistet wird, in denen der Knochen direkten Kontakt zum Implantat aufweist. Diese Knochenabschnitte mit direktem Kontakt zum Implantat sind es, die die auf das Implantat wirkenden Kräfte aufnehmen. Weisen große Anteile der Implantatoberfläche direkten Knochenkontakt auf, so deutet dies auf eine große Belastbarkeit des Implantats hin.

Zur Bestimmung des BIC wurden die seitlichen Kanten jeden Implantats vermessen, anschließend wurden manuell Bereiche direkten Knochen-Implantat-Kontaktes

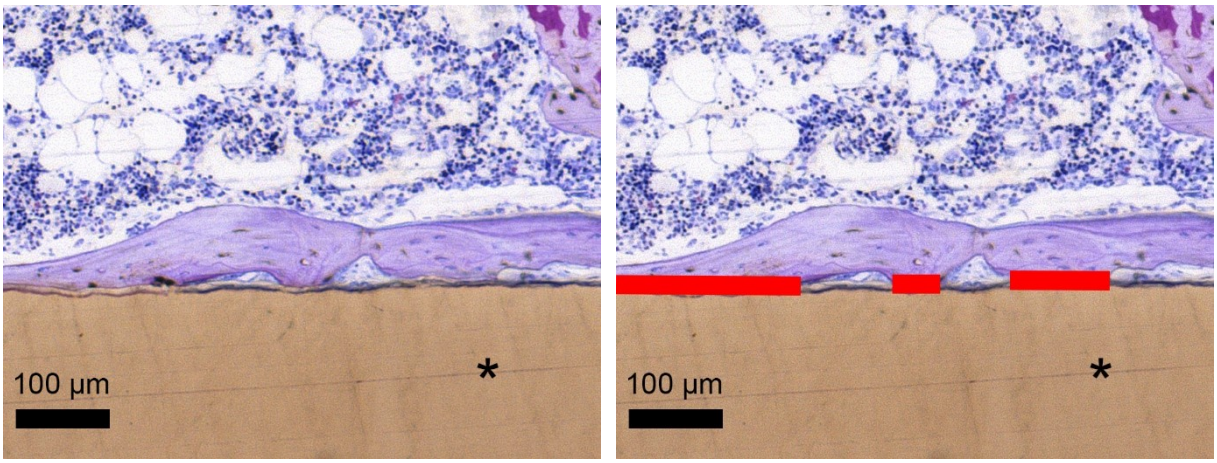


Abbildung 12: Bestimmung des BIC. * = Implantat, rote Markierungen entsprechen Abschnitten mit direktem Knochen-Implantat-Kontakt.

markiert und vermessen (Abb. 12). Aus dem Verhältnis der Länge direkter Knochenanlagerung zu der Gesamtlänge der Implantatkante errechnet sich der BIC.

2.4 Biomechanische Untersuchung

Parallel dazu erfolgten durch Hr. Frankenberger (AG Nanomaterialien, Institut für Physik, Universität) an den Femora der Ratten biomechanische Tests. Derartige Auszugsversuche gelten als quantitatives Maß für die Stärke der Osseointegration von Implantaten [110, 112, 113]. Die Knochenstücke wurden in Harz eingebettet und per universeller Zugprüfmaschine (ZwickRoell GmbH & Co. KG, Ulm, Deutschland) wurden die Implantate mit einer Geschwindigkeit von 1 mm/min axial aus dem Knochenlager gezogen. Parallel wurde die hierfür benötigte Kraft gemessen. Damit ließ sich die maximale Kraft bestimmen, bei der sich ein Implantat vollständig aus dem periimplantären Lager löste. Die Kraft wird in dieser Arbeit in Newton (N) angegeben.

Die Ergebnisse des BIC, der anteiligen Knochenflächen und der biomechanischen Auszugsversuche werden als Mittelwert x ± STABW angegeben.

2.5 Statistische Methoden

Die erhobenen Daten wurden zunächst tabellarisch in Microsoft® Excel® für Mac 2011 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA) erfasst. Die statistischen Tests wurden mittels IBM SPSS Statistics 27 (IBM, Armonk, New York, USA) durchgeführt.

Ziel dieser Studie war es, die Osseointegration von PEEK-Implantaten durch eine Beschichtung mit NB zu verbessern. Die Nullhypothese lautet, dass sich die postoperative Osseointegration zwischen der Versuchsgruppe (beschichtete Implantate, im Folgenden VGr) und der Kontrollgruppe (nicht beschichtete Implantate, im Folgenden KGr) nicht unterscheidet. Die Alternativhypothese hingegen lautet, dass die Beschichtung mit NB unter Herstellung eines Interfaces die Osseointegration von PEEK-Implantaten verbessert. Als quantitative Zielparameter wurden die anteilige Knochenfläche im periimplantären Lager, der Bone-to-Implant-Contact (BIC) sowie die in den biomechanischen Versuchen gemessene maximale Kraft festgelegt.

Innerhalb der einzelnen Zeiträume wurden die Ergebnisse zwischen den beiden Gruppen (VGr vs. KGr) durch den Student´s t-Test sowie den Mann-Whitney-U Test auf Signifikanz getestet. Geprüft wurde gegen ein α-Niveau von 5%. Als Vortests für den Student´s t-Test erfolgten die Prüfung auf Normalverteilung der Grundgesamtheiten per Shapiro-Wilk-Test sowie die Prüfung der Homoskedastizität per Levene Test.

Neben dem beschriebenen Vergleich zwischen VGr und KGr wurden auch die verschiedenen Zeiträume innerhalb der beiden Gruppen miteinander verglichen und auf Signifikanz geprüft. Dies erfolgte über den one way ANOVA Test und den Kruskal-Wallis Test. Als Vortests für den one way ANOVA Test erfolgten die Prüfung auf Normalverteilung der Grundgesamtheiten per Shapiro-Wilk-Test sowie die Prüfung der Homoskedastizität per Levene Test.

Um der Alphafehlerkumulierung entgegenzuwirken wurde die Bonferroni Korrektur angewendet.

3. Ergebnisse

Postoperativ zeigte sich bei allen untersuchten Tieren ein zeitgerechter Heilungsprozess bei physiologischem Trink- und Bewegungsverhalten. Klinische Zeichen der Entzündung oder Implantatabstoßung waren nicht zu beobachten.

3.1 Histologische Auswertung

In der dargestellten Übersichtsaufnahme (Abb. 13a) ist der distale Teil des Femurs der Ratte im coronalen Schliff zu erkennen. Der Condylus lateralis femoris liegt in dieser Aufnahme oben, der Condylus medialis femoris liegt unten. Das eingebrachte PEEK-Implantat (*) stellt sich bräunlich dar, unterhalb des Implantats befindet sich der Bohrkanal (#). Da die Implantate vom lateralen Condylus aus in den Knochen eingebracht sind, ist das Implantat längst angeschnitten und das Innengewinde ist sichtbar. In keinem Präparat findet sich eine Perforation der Kortikalis der Gegenseite und alle Implantate waren wie in der Abb. exemplarisch dargestellt korrekt platziert. Seitlich des Implantats stellt sich violett gefärbt das periimplantäre Knochenlager dar (Abbildung 13b, §). Wie auch klinisch lassen sich histologisch keine Anzeichen von Entzündungs- oder Abstoßungsreaktionen finden.

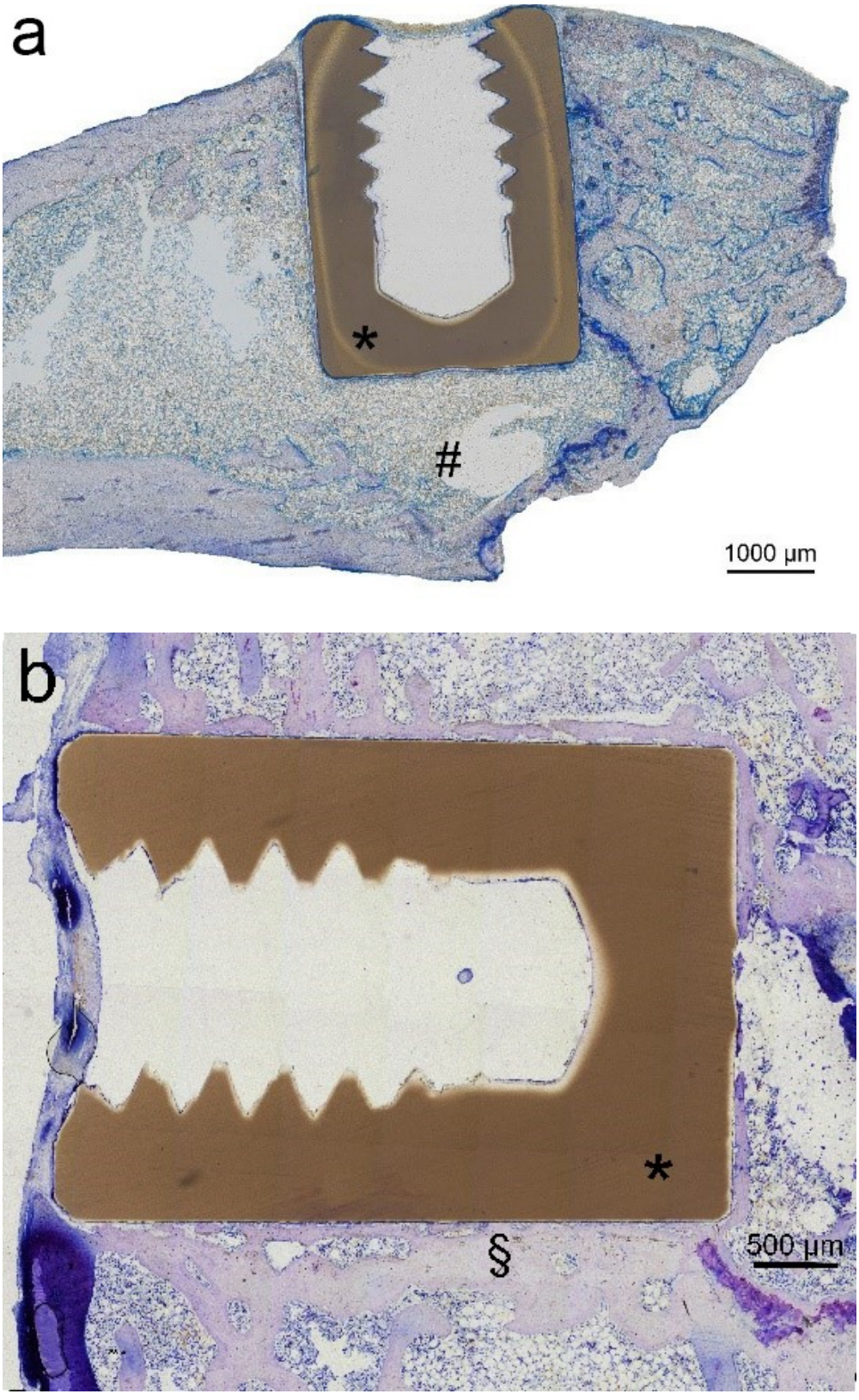


Abbildung 13: a) Übersichtsaufnahme distaler Femur mit Implantat (*) und Bohrkanal (#), 4 Wochen VGr b) Darstellung des periimplantären Knochenlagers (§), 8 Wochen KGr

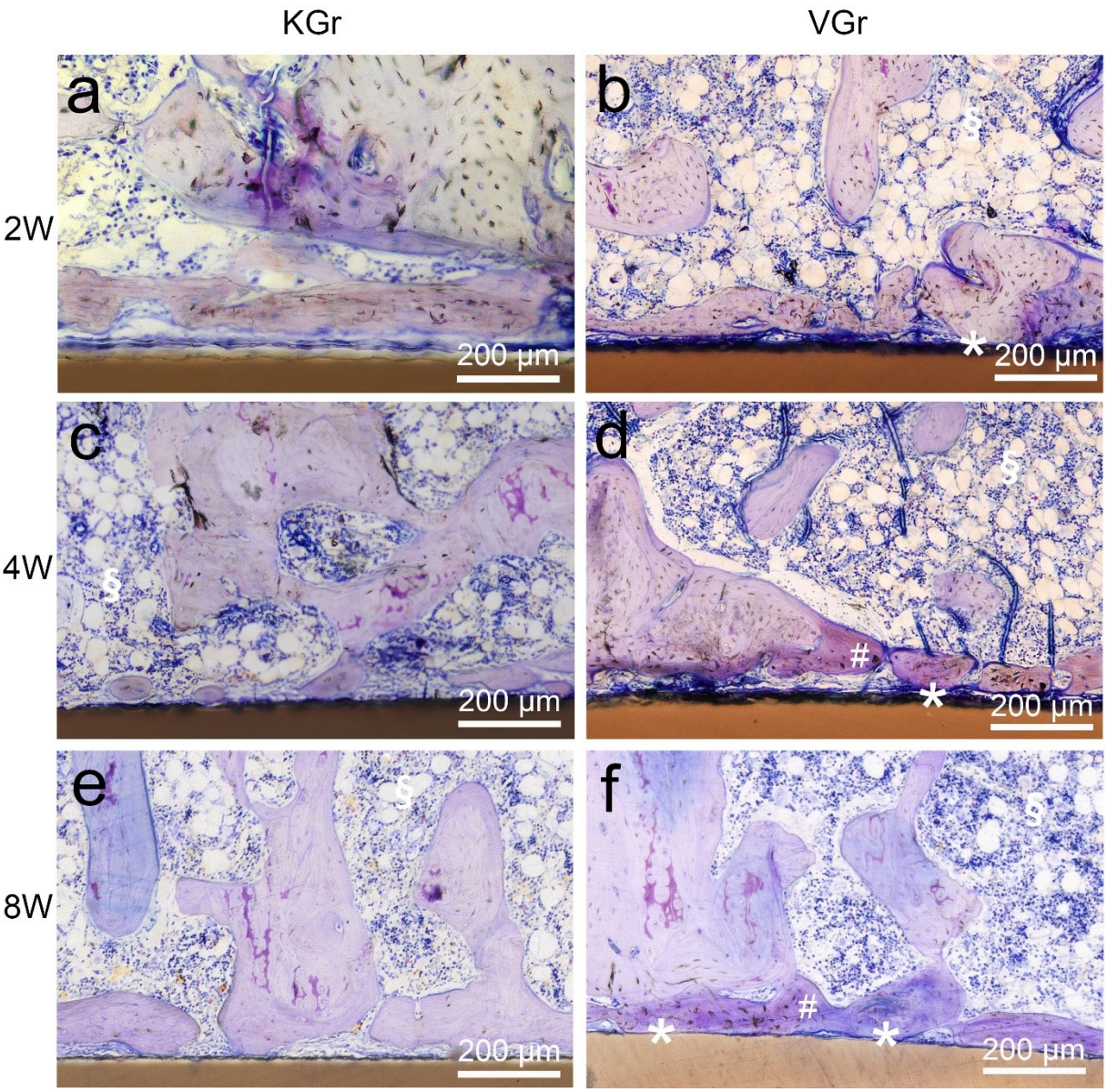


Abbildung 14: Repräsentative Aufnahmen des periimplantären Lagers der KGr (links) und der VGr (rechts) nach 2, 4 sowie 8 Wochen. Markierungen: Knochen-Implantat-Verbund (*), neu gebildeter Knochen (#), gesundes Knochenmark (§)

Alle Implantate beider Gruppen zeigen zu jedem untersuchten Zeitpunkt eine gute Osseointegration. In allen Abbildungen ist gesundes Knochenmark zu erkennen (§), welches sich mit einem regelrechten Anteil von Adipozyten und blutbildenden Zellen darstellt. Bereits in der 2-Wochen-Population lässt sich die Bildung von Knochen direkt am Implantat beobachten (Abbildung 14a, 14b). Dieser direkt am Implantat gebildete Knochen zeigt sich nach acht Wochen bereits deutlich prominenter. Besonders in den frühen Zeiträumen findet sich in der VGr direkt auf der Implantatoberfläche eine Schicht unverkalkten Osteoids. Unreifer, neu gebildeter Knochen stellt sich dunkel

violett dar (Abb. 14d, 14f, Markierung #), älterer und reiferer Knochen etwas heller (Abbildung 15). Verglichen mit der KGr zeigen sich in der VGr deutlich flächigere Knochenkontakte mit dem Implantat (Abbildung 14b, 14d, 14f, Markierung *). Obwohl auch in der KGr neuer Knochen gebildet wurde (Abb. 14a, 14c, 14e) findet sich hier häufig ein wenige Mikrometer dicker mit Weichgewebe gefüllter Spalt, der direkte Knochen-Implantat-Kontakte verhindert. Neu gebildeter Knochen finden sich im Sinne einer Distanzosteogenese vor allem am bestehenden Knochenlager angelagert. Besonders in der VGr finden sich aber auch neue Knochenbälkchen direkt auf der Implantatoberfläche ohne Kontakt zum bestehenden Knochenlager. Dies ist als Zeichen einer stattgefundenen Kontaktosteogenese zu werten.

Eingemauert in den neu um die Implantate gebildeten Knochen finden sich Osteozyten. Besonders auf der Oberfläche der VGr zeigen sich längliche mehrkernige Riesenzellen, welche anhand von Form und Größe als Osteoklasten identifiziert werden können (Abbildung 16, Markierung *) Diese sind im Sinne des Remodelings als Zeichen des angeregten Knochenumbaus zu werten. Der hier sichtbare transparente Spalt direkt am Implantat, welcher keine erkennbare Struktur enthält, ist auf eine Gewebeschrumpfung als Folge der Schliffherstellung zurück zu führen.

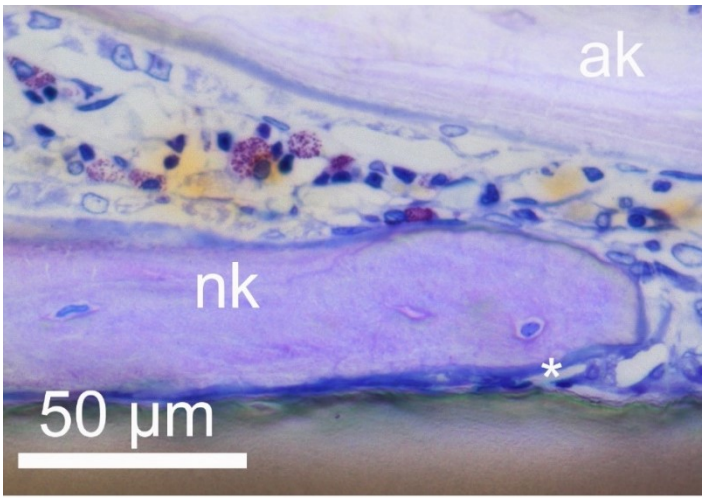


Abbildung 15: Neu gebildeter Knochen (nk) mit Osteoid (*) auf der Implantatoberfläche ohne Kontakt zum alten Knochen (ak), VGr 8 Wochen

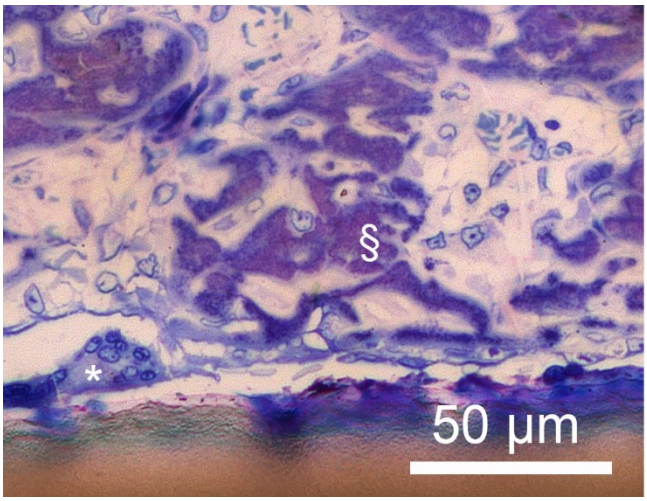
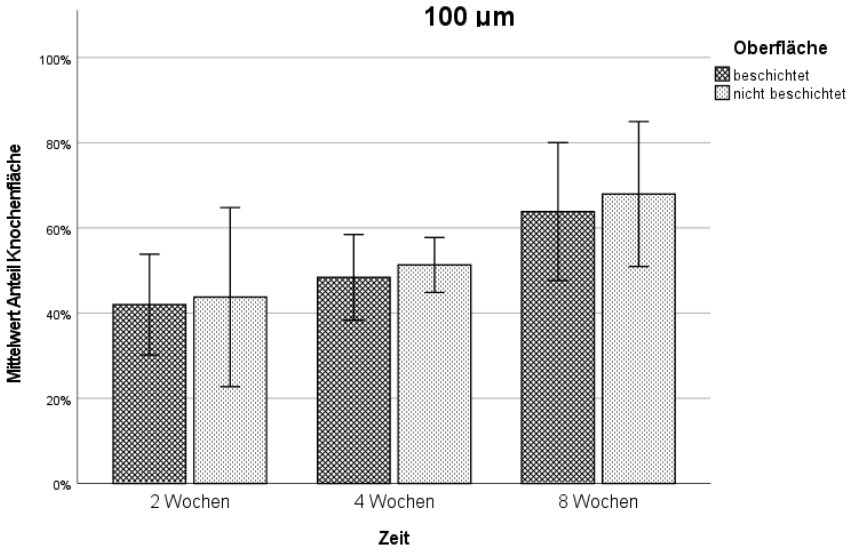


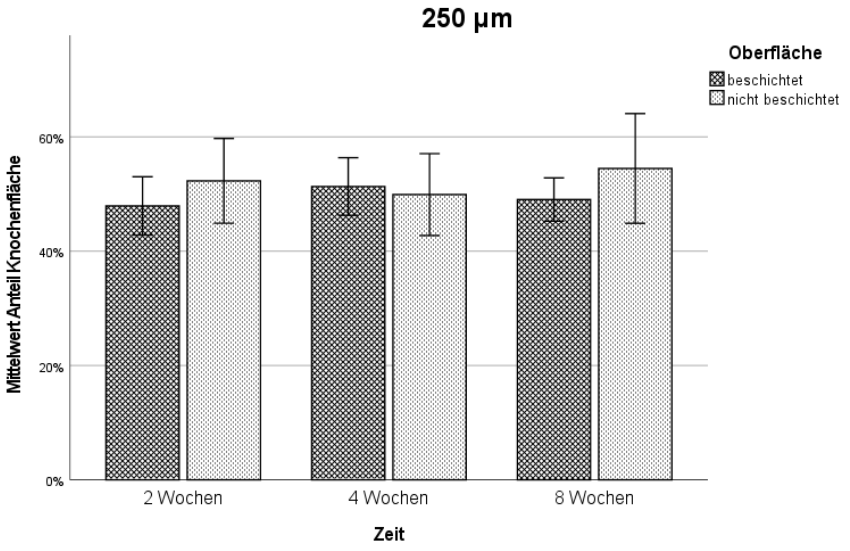
Abbildung 16: Osteoklast auf der Implantatoberfläche (*), alter Knochen (§), VGr 2 Wochen

3.2 Histomorphometrische Auswertung

3.2.1 Knochenfläche periimplantäres Lager

Für alle drei analysierten periimplantären Flächen (100 µm, 250 µm, 500 µm Abstand vom Implantat) zeigte sich zwischen KGr und VGr zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied bzgl. der gemessenen Knochenfläche. Die Mittelwerte der Knochenfläche unterschieden sich bei relativ großen Standardabweichungen nur gering voneinander (Tabelle 1).





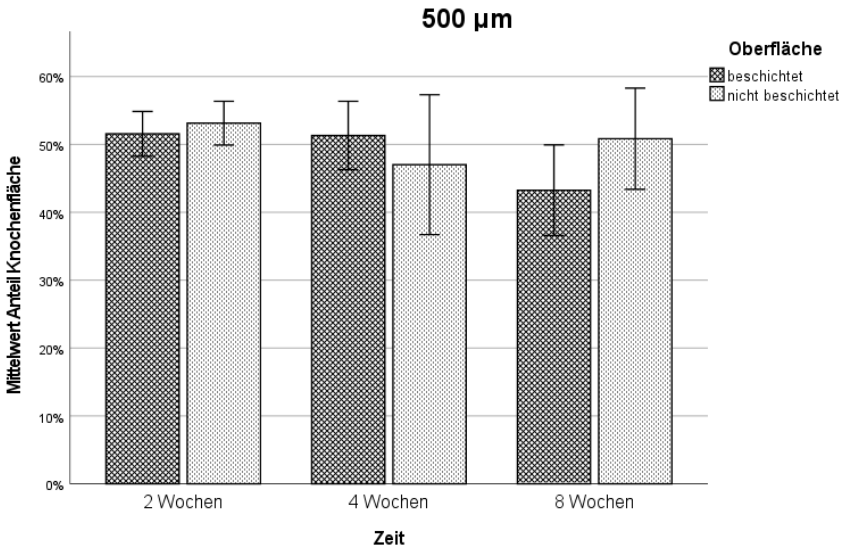


Tabelle 1: Ergebnisse Anteilige Knochenfläche im periimplantären Lager (Abstand 100, 250 und 500 µm vom Implantat):

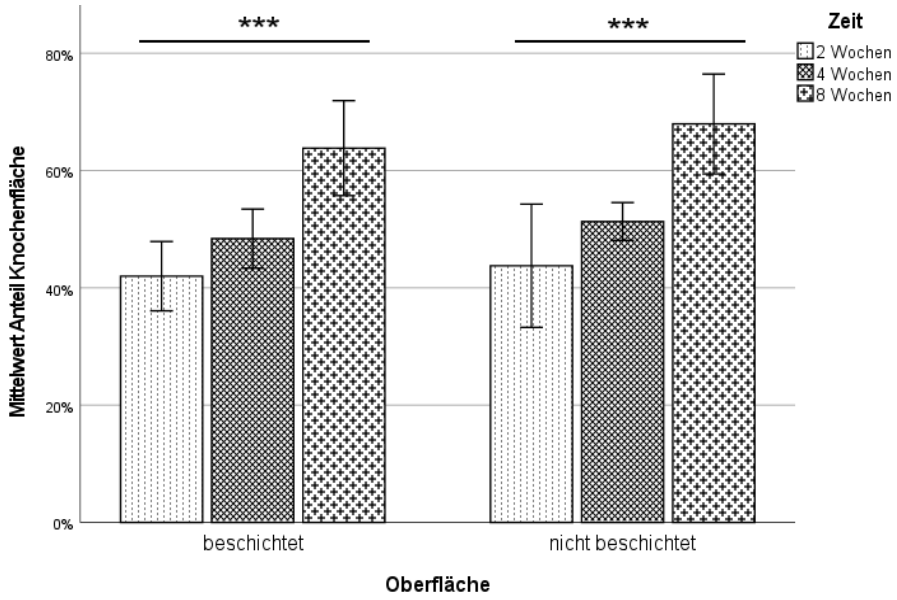


Tabelle 2: Ergebnisse Anteilige Knochenfläche im periimplantären Lager 100 µm, Vergleich innerhalb VGr und KGr

Wie in Tabelle 2 dargestellt konnte im 100 µm-Bereich über die Zeit in beiden Gruppen ein Anstieg der gemessenen Knochenfläche verzeichnet werden. In der VGr stieg der Anteil der Knochenfläche von 42,0 % nach 2 Wochen auf 63,8 % nach 8 Wochen, in der KGr stieg der Anteil von 43,8 % auf 68,0 %. Dieser Anstieg war für beide Gruppen statistisch signifikant (jeweils $p < 0{,}001$). Für die Flächen im 250 µm- und 500 µm-Abstand ließ sich über die Zeit keine derartige Zunahme der Knochenfläche registrieren.

3.2.2 Bone-to-Implant-Contact (BIC)

Die Untersuchung des BIC ergab für alle drei Zeiträume höhere Werte in der VGr als in der KGr (Tabelle 3). In der 2-Wochen-Gruppe war dieses Ergebnis bei großer Abweichung vom Mittelwert nicht signifikant. In der 4- und 8-Wochen-Gruppe ließen sich bei den beschichteten Implantaten signifikant größere Kontaktflächen zwischen Knochen und Implantat messen (4 Wochen: 35,7 % zu 25,0 %. 8 Wochen: 53,0 % zu 38,5 %).

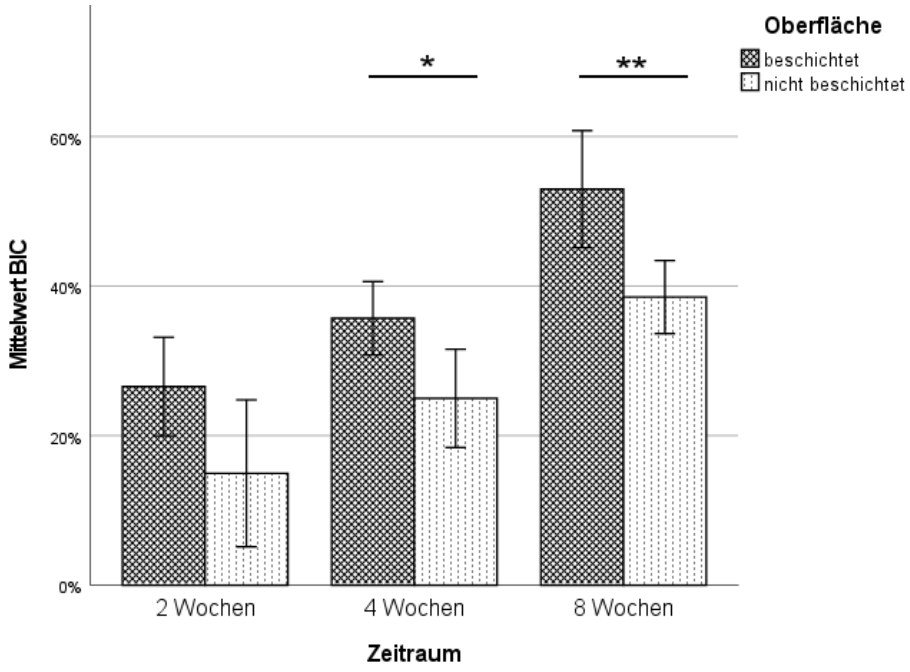


Tabelle 3: Ergebnisse BIC

Sowohl für die VGr als auch für die KGr konnte ein signifikanter Zuwachs des BIC mit der Zeit nachgewiesen werden ($p < 0{,}001$). Während der postoperativen Heilung nahm also im beobachteten Zeitraum von 8 Wochen die von Knochen bedeckte Implantatoberfläche in beiden Gruppen signifikant zu. In der VGr stieg der BIC dabei von 26,6 % auf 53,0 %, in der KGr konnte ein Anstieg von 15,0 % auf 38,5 % verzeichnet werden.

3.3 Biomechanische Untersuchung

In den biomechanischen Untersuchungen zeigte sich für alle drei Zeiträume, dass mehr Kraft nötig ist, um die beschichteten Implantate aus dem Implantatlager zu lösen, als dass dies bei nicht beschichteten Implantaten der Fall ist (2 Wochen: 7,3 N vs. 2,1 N; 4 Wochen: 10,4 N vs. 3,2 N; 8 Wochen: 13,6 N vs. 5,7 N). Diese Ergebnisse zeigten für alle Zeiträume statistische Signifikanz. Weiterhin zeigen die Ergebnisse, dass die benötigte Kraft zur Implantatlösung in beiden Gruppen mit zunehmendem Heilungsprozess steigt. In der VGr stieg die Kraft von 7,3 N auf 13,6 N und verdoppelte sich somit fast, in der KGr konnte ein Anstieg von 2,1 N auf 5,7 N verzeichnet werden

(Tabelle 4). Aufgrund größerer Abweichungen vom Mittelwert ist diese Zunahme für die VGr nicht statistisch signifikant (p = 0,114), für die KGr ist die statistische Signifikanz jedoch gegeben (p = 0,011) [105].

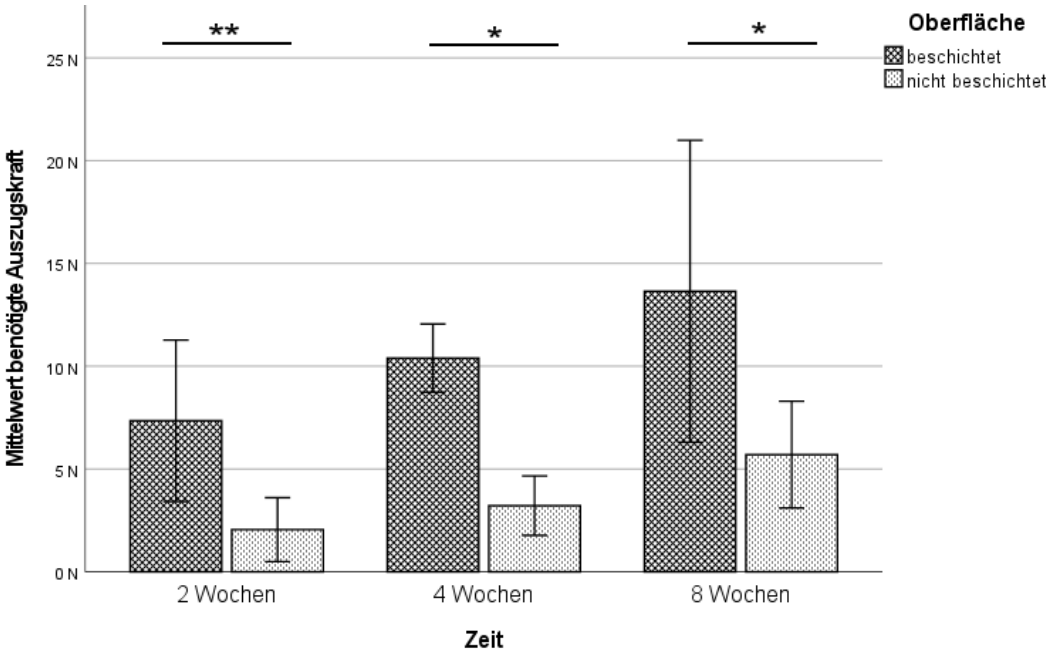


Tabelle 4: Ergebnisse mechanische Auszugsversuche

4. Diskussion

Die Grundidee dieser Arbeit war es, die bioinerte Oberfläche von PEEK durch eine bioaktive Oberflächenmodifikation derart zu verändern, dass eine verbesserte Osseointegration resultiert [114, 115] Der Einfluss dieser Beschichtung auf die postoperative Heilung wurde nach 2, 4 und 8 Wochen in einem Ratten-Femur-Modell untersucht. Die Besonderheit des gewählten Ansatzes liegt darin, dass sich zwischen Implantat aus PEEK und der Beschichtung aus SiO_2/HA ein nanoporöses Interface bestehend aus Polymer und Biomaterial befindet. Dies wurde durch ein Spin-Spray-Beschichtungsverfahren und durch anschließendes Erhitzen der Oberfläche realisiert [105]. Die so entstandene Übergangszone soll den vollständigen Abbau des Beschichtungsmaterials verhindern, aus dem ein Freilegen der bioinerten Polymer-Oberfläche resultieren würde. Weiterhin soll diese Modifikation die chemischen und strukturellen Oberflächeneigenschaften nachhaltig verbessern, um eine langfristig belastungsstabile Osseointegration zu ermöglichen.

Bezogen auf die erste Leitfrage dieser Arbeit kann zusammengefasst werden, dass sich die bioaktive Beschichtung günstig auf die Bildung einer belastungsstabilen Knochen-Implantat-Verbindung auswirkt. Im postoperativen Verlauf zeigten sich klinisch keine lokalen Entzündungszeichen oder Auffälligkeiten der Tiere. Die qualitative histologische Untersuchung ergibt an den Implantaten mit Beschichtung (VGr) Zeichen einer Kontaktosteogenese. Dies zeigt sich auf Implantaten ohne Beschichtung (KGr) in deutlich geringerem Ausmaß. Auch ein erhöhter Knochen-Metabolismus in der VGr lässt sich durch gehäuft auftretende Osteoklasten detektieren, welche im Rahmen des Remodelings den Abbau alten Knochens realisieren [17, 19]. Passend zu den klinischen Beobachtungen finden sich auch histologisch keine Zeichen von periimplantären Infektionen, Entzündungen oder Abstoßungsreaktionen. Besonders die histologischen Beobachtungen deuten auf eine schnellere und suffizientere Bildung von Knochen-Implantat-Verbindungen und somit auf einen günstigen Einfluss der Beschichtung auf den Heilungsprozess hin.

Auch die vorliegenden histomorphometrischen Ergebnisse der Studie zeigen, dass Implantate der VGr im Vergleich zu Implantaten der KGr gemessen an den verwendeten Parametern eine verbesserte Osseointegration zeigen. Der durchschnittlich gemessene BIC der VGr nach 8 Wochen (53 %) ist signifikant höher

als der BIC der KGr (38,5 %) und dabei vergleichbar mit den BIC-Werten von PEEK-Implantaten mit Plasma-besprühter Titan-Beschichtung (55,3 %) [116]. Ähnlich wie diese bei Torstrick et al. verwendeten Titan-Oberflächen, welche eine hohe Osteoprogenitor-Zell-Adhäsion aufweisen, wurde auch für HA-Oberflächen eine verbesserte Adhäsion von Osteoprogenitor-Zellen beschrieben [117]. Derzeit sind erhöhte Osteoprogenitor-Zellzahlen nur für Titan-beschichtete PEEK-Implantate bewiesen [118]. Für die in dieser Studie präsentierten höheren BIC-Werte der SiO_2/HA-beschichteten Implantate könnte ebenso eine erhöhte Osteoprogenitor-Zellzahl auf der Implantatoberfläche ursächlich sein. Durch eine verbesserte Adhäsion mit resultierend höherer Zellzahl kann somit die Bildung neuen Knochens am Implantat gefördert werden. Die höheren BIC-Werte zeigten sich auch bereits in den Gruppen mit kürzerer Beobachtungszeit. Der Unterschied in der 2-Wochen-Population war dabei aber nicht statistisch signifikant. Die Ergebnisse der BIC-Untersuchung decken sich mit den Vorarbeiten von Adam [103] und Keuer [33], die ebenfalls durch Beschichtungen mit nanostrukturiertem HA höhere BIC-Werte erzielten. Grundsätzlich bestätigen diese Ergebnisse den bekannten Ansatz, die Osseointegration Implantaten durch den Zusatz von HA und HA-basierten Biomaterialien zu verbessern [114, 119, 120]. Im Kontrast zu Studien, die Untersuchungen der Oberflächenbeschaffenheit sowie histologische Untersuchungen beinhalten [120, 121], wird im Rahmen dieser Studie die Qualität der Osseointegration durch die zusätzlichen biomechanischen Auszugsversuche unterstrichen. Die Ergebnisse dieser Versuche zeigen, dass für das Lösen der Implantate der VGr im Vergleich zur KGr die doppelte bis dreifache Zugkraft nötig ist und sprechen somit wie auch die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen für einen verbesserten Knochen-Implantat-Kontakt. Interferierende Faktoren, welche Einfluss auf die mechanische Stabilität hätten, wie etwa ein Schrauben-Design der Implantate, wurden durch die Wahl der zylindrischen Implantat-Form weitestgehend ausgeschlossen. Demnach sind die gemessenen Unterschiede in den mechanischen Auszugsversuchen direkte Folge der verbesserten Knochen-Implantat-Verbindung und unterstreichen die verbesserte Osseointegration von mit SiO_2/HA beschichteten Implantaten.

Die beobachtete Osteoidschicht auf der Implantatoberfläche, welche sich vor allem nach zwei Wochen auf den beschichteten Implantaten zeigte lässt sich auf die Beschichtung aus Knochenersatzmaterial zurückführen. Wie durch Xu et. al [101] nachgewiesen wurde, ist bereits nach 2 Wochen von einem vollständigen

Matrixwechsel auszugehen, sodass das HA zur Osteoid- und in der Folge zur Knochensynthese zur Verfügung steht. Diese Beobachtung deckt sich mit den Messungen des BIC und mit Frankenbergers biomechanischen Versuchen [105]. Die vermehrte Knochenbildung direkt auf der Implantatoberfläche führt zu mehr direktem Knochen-Implantat-Kontakt, welcher wiederum die mechanische Verankerung erhöht. Durch den beschriebenen Matrixwechsel kann auch das nicht signifikante Ergebnis des BIC in der 2-Wochen-Population erklärt werden, da nach Implantation zunächst der Matrixwechsel stattfindet, an den sich die Bildung von Osteoid anschließt, welches dann erst durch die Osteoblasten mineralisiert werden muss. Da die Messung des BIC nur bereits mineralisierten Knochen umfasste könnte für die 2-Wochen-Population der positive Effekt der Beschichtung noch nicht messbar gewesen sein.

Im Kontrast zu dieser Osteoidschicht ließ sich in der KGr zwischen Implantat und Knochen teilweise eine bindegewebige Schicht abgrenzen. Eine solche bindegewebige Schicht ist bereits in anderen Untersuchungen zur Osseointegration von PEEK-Implantaten beschrieben worden [51, 52]. Dies ist ein Indiz dafür, dass durch den bioinerten Charakter des Polymers keine stabile Knochen-implantat-Verbindung entstehen konnte und das Implantat stattdessen bindegewebig eingekapselt wurde. Diese qualitative Beobachtung findet sich quantitativ in den Ergebnissen von BIC und biomechanischen Auszugsversuchen wieder: es hatte sich weniger direkter Knochen-Implantat-Kontakt gebildet und dies resultierte in einer reduzierten mechanischen Verankerung des Implantats.

Im Gegensatz zu den erhöhten BIC-Werten in der VGr lässt sich in der Untersuchung der Knochenfläche im periimplantären Lager kein Unterschied zwischen den verschiedenen Implantaten nachweisen. Ein direkter Effekt der Beschichtung auf die Menge des neu gebildeten Knochens in größerer Entfernung zum Implantat lässt sich daher nicht nachweisen. Im 100 µm-Bereich, also der direkten Umgebung des Implantats findet sich für beide Implantate ein Zuwachs der Knochenmenge über die Zeit. Dies sind die Auswirkungen des Bohrkanals in Kombination mit der leicht konischen Form der Implantate. Der Spalt wird im Prozess der postoperativen Heilung mit Knochentrabekeln gefüllt.

Die in dieser Arbeit verwendete Beschichtung besteht aus in einer Silicagelmatrix eingebetteten HA-Nanokristallen, die morphologisch identisch zu biologischem HA sind [97]. Das Komposit aus HA und SiO_2 formt eine nanoporöse Matrix und bildet

somit eine große Oberfläche. Da die strukturellen Eigenschaften des Beschichtungsmaterials identisch zu denen des ursprünglichen Knochenersatzmaterials sind, lassen sich die Erkenntnisse bzgl. Biodegradation und die Effekte auf die Osteogenese übertragen. *In vivo* Studien zeigten die hohe Biokompatibilität des voll degradierbaren synthetischen Knochenersatzmaterials in verschiedenen Formen (z.B. als Granulat) sowie eine schnelle Bildung neuen Knochens [122]. Schlüsselmechanismus des Knochenersatzmaterials ist der frühe Austausch der Silicagelmatrix binnen weniger Tage durch autologe Moleküle und knochenspezifische Proteine, deren Funktion in der Anziehung, Adhärieren und Differenzieren von Knochenzellen besteht [100, 101]. Adam et al. modifizierten Titan-Implantate mit einer vergleichbaren nanostrukturierten SiO_2/HA-Beschichtung. In *in vitro* Versuchen konnte kurz nach einer Immersion der Implantate in humanem Blut ein drastischer Abfall von Si innerhalb der Beschichtung beobachtet werden [98]. Dies deckt sich mit dem beschriebenen Austausch der Silica-Gelmatrix durch eine autologe extrazelluläre Matrix, welcher in reinem SiO_2/HA Knochenersatzmaterial beobachtet wurde [101]. Dieser bekannte Mechanismus könnte in dieser *in vivo* Studie einen zusätzlichen Beitrag zur Erhöhung des BICs und zur direkten Bildung von Knochen auf der Implantat-Oberfläche geleistet haben.

Grundsätzlich können durch etwaige Schäden der Beschichtung oder durch den Umbau der Beschichtung die ursprüngliche Oberfläche des Implantats freigelegt werden. In einem solchen Fall käme es bei den verwendeten Implantaten aus PEEK durch das beschriebene bioinerte Verhalten des Polymers zu einer Abnahme des BIC. Frankenberger untersuchte bei den in dieser Studie verwendeten Implantaten der 8-Wochen-Gruppe das Interface in der VGr mittels Raster- und Transmissionselektronenmikroskop. Im Interface ließ sich kein Si nachweisen, daher ist von einem vollständigen Matrixwechsel mit Austausch durch autologe Proteine auch innerhalb des Interfaces auszugehen. HA-Kristalle hingegen lagen weiterhin im Interface vor. Somit wurde das HA nicht abgebaut, sondern liegt in der porösen PEEK-Struktur mit autologen Proteinen vor [105]. Osteoklasten sind deutlich größer als die primäre Porengröße im Beschichtungsmaterial. Dies könnte zu einer Verzögerung bzw. Verhinderung des Abbaus des Beschichtungsmaterials im Bereich des nanostrukturierten Interfaces führen, sodass die bioinerte Oberfläche des Polymers nicht freigelegt wird. Insofern führt die durchgeführte Beschichtung mit Herstellung des Interfaces sowohl zu einer chemischen als auch strukturellen Modifikation der PEEK-

Implantat-Oberfläche, die eine stabile, langanhaltende Verbindung zwischen der modifizierten PEEK-Oberfläche und dem umgebenden Knochen ermöglicht.

Diese vielversprechenden Ergebnisse der Oberflächenuntersuchung in Verbindung mit den zuvor diskutierten Ergebnissen der histologischen und biomechanischen Untersuchungen bestätigen die Alternativhypothese, dass die verwendete Beschichtung die Ausbildung einer direkten Knochen-Implantat-Verbindung verglichen mit PEEK-Implantaten ohne Beschichtung verbessert. Die Kombination einer nanostrukturierten Oberfläche mit einer biochemischen Imitation von organischen und anorganischen Komponenten von Knochen [123] im Interface sorgt im Sinne der Kontaktosteogenese für eine vermehrte Bildung neuen Knochens direkt auf der Implantatoberfläche und erhöht damit die biomechanische Stabilität für alle untersuchten Zeiträume. Die zweite Leitfrage dieser Arbeit kann dahingehend beantwortet werden, dass die Osseointegration von PEEK-Implantaten durch Beschichtung mit Knochenersatzmaterial unter Schaffung eines Interface verbessert werden kann.

Die in der VGr signifikant verbesserten Werte für den BIC und die biomechanischen Auszugsversuche nach 8 Wochen zeigen die Langzeit-Stabilität der verwendeten Implantate. Gemessen am Verhältnis des Alters von Menschen und Ratten entsprechen 8 Wochen beim Menschen einem Zeitraum von 5,4 Jahren [107, 108]. Damit decken die untersuchten Zeiträume theoretisch gesehen die Lebensdauer von dentalen Implantaten ab.

5. Zusammenfassung

Die bioinerten Oberflächeneigenschaften von Polyetheretherketon erschweren eine zeitnahe und belastbare Osseointegration und machen somit eine Modifikation der Oberfläche nötig. In dieser experimentellen Arbeit wurde durch eine bioaktive Beschichtung aus Knochenersatzmaterial auf SiO_2/HA-Basis mit Erzeugung eines Interfaces für PEEK-Implantate in einem Tierversuchsmodell eine stabile Knochen-Implantat-Verbindung erreicht. Im Anschluss an die Beschichtung wurde die Oberfläche der Implantate erhitzt, um ein nanoporös strukturiertes Interface zu erschaffen. Dieses Interface, welches als Komposit aus Polymer und Beschichtungsmaterial vorliegt, soll die Osteokonduktivität der Implantate verbessern, indem es den vollständigen Abbau des Knochenersatzmaterials verhindert, welcher wiederum die bioinerte Oberfläche freilegen würde. Weiterhin sollte das Interface durch eine formstabile Verbindung die Haftung der Beschichtung verbessern, um dessen Ablösung zu verhindern. In einer tierexperimentellen Studie an 36 männlichen Wistar-Ratten wurden die Modellimplantate in die Femora der Tiere eingebracht. Als Kontrollgruppe dienten unbeschichtete PEEK-Implantate, wobei jedes Tier randomisiert je ein beschichtetes sowie ein unbeschichtetes Implantat erhielt. Nach zwei, vier und acht Wochen wurden aus den Femora Schliffpräparate hergestellt, welche hinsichtlich qualitativer und quantitativer Parameter untersucht wurden. Hierbei wurde eine verbesserte Osseointegration der beschichteten Implantate beobachtet, welche vor allem durch vermehrten Knochen-Implantat-Kontakt sowie begleitend zu dieser Arbeit durch Frankenberger in einer verbesserten mechanischen Verankerung gemessen wurde [105]. Demnach wirkt sich die Kombination aus nanoporösem Interface und Knochenaufbaumaterial in der Beschichtung von PEEK-Implantaten positiv auf deren Osseointegration aus. Die bioinerten Eigenschaften des Polymers können nachhaltig und dauerhaft kompensiert werden.

6. Literaturverzeichnis

1. Statista. Statista-Umfrage Volksleiden & OTC 2017. 2017. https://de.statista.com/infografik/8488/rueckenschmerzen-in-deutschland/. Zuletzt aufgerufen 18.08.2022.

2. Capener N. Spondylolisthesis. Br. J. Surg. 1932;19:374–86. doi:10.1002/bjs.1800197505.

3. Burns BH. An Operation for Spondylolisthesis. The Lancet. 1933;221:1233. doi:10.1016/S0140-6736(00)85724-4.

4. Czerwein JK, Thakur N, Migliori SJ, Lucas P, Palumbo M. Complications of anterior lumbar surgery. J Am Acad Orthop Surg. 2011;19:251–8. doi:10.5435/00124635-201105000-00002.

5. DeBowes RM, Grant BD, Bagby GW, Gallina AM, Sande RD, Ratzlaff MH. Cervical vertebral interbody fusion in the horse: a comparative study of bovine xenografts and autografts supported by stainless steel baskets. Am J Vet Res. 1984;45:191–9.

6. Phan K, Mobbs RJ. Evolution of Design of Interbody Cages for Anterior Lumbar Interbody Fusion. Orthop Surg. 2016;8:270–7. doi:10.1111/os.12259.

7. Merk H, Koch H, Liebau C, Baltzer A, Dragendorf L, Grasshoff H. Der Einsatz des Harms-Titannetzzylinders zum Wirbelkörperersatz bei Wirbelsäulenmetastasen. Z Orthop Ihre Grenzgeb. 2000;138:169–73. doi:10.1055/s-2000-10134.

8. Ray CD. Threaded titanium cages for lumbar interbody fusions. SPINE. 1997;22:667-79; discussion 679-80. doi:10.1097/00007632-199703150-00019.

9. Brantigan JW, Steffee AD. A carbon fiber implant to aid interbody lumbar fusion. Two-year clinical results in the first 26 patients. SPINE. 1993;18:2106–7. doi:10.1097/00007632-199310001-00030.

10. Hoff E, Strube P, Gross C, Hartwig T, Putzier M. Die monosegmentale ventrale Spondylodese mit dem SynFix-LR™. Eine prospektive 2-Jahres-Studie. Orthopade. 2010;39:1044–50. doi:10.1007/s00132-010-1654-9.

11. Schleicher P, Gerlach R, Schär B, Cain CMJ, Achatz W, Pflugmacher R, et al. Biomechanical comparison of two different concepts for stand alone anterior lumbar interbody fusion. Eur Spine J. 2008;17:1757–65. doi:10.1007/s00586-008-0797-4.

12. Kurtz SM. Development and Clinical Performance of PEEK Intervertebral Cages. In: PEEK Biomaterials Handbook: Elsevier; 2019. p. 263–280. doi:10.1016/B978-0-12-812524-3.00015-6.

13. Carpenter RD, Klosterhoff BS, Torstrick FB, Foley KT, Burkus JK, Lee CSD, et al. Effect of porous orthopaedic implant material and structure on load sharing with simulated bone ingrowth: A finite element analysis comparing titanium and PEEK. J Mech Behav Biomed Mater. 2018;80:68–76. doi:10.1016/j.jmbbm.2018.01.017.

14. Zhou Z, Shi Q, Wang J, Chen X, Hao Y, Zhang Y, Wang X. The unfavorable role of titanium particles released from dental implants. Nanotheranostics. 2021;5:321–32. doi:10.7150/ntno.56401.

15. Kurtz M. S., Devine J. N. PEEK Biomaterials in Trauma, Orthopedic, and Spinal Implants. Biomaterials;2007:4845–69.

16. Flindt R. Amazing Numbers in Biology. Berlin, Heidelberg: Springer; 2006.

17. Wintermantel E, Ha S-W. Medizintechnik: Life Science Engineering (German Edition). 4th ed. Dordrecht: Springer; 2008.

18. Gradinger R, Gollwitzer H. Ossäre Integration. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin Verlag Heidelberg; 2006.

19. Pavelka M, Roth J. Funktionelle Ultrastruktur: Atlas der Biologie und Pathologie von Geweben. Wien: Springer; 2005.

20. Zimmer P, Appell H-J. Funktionelle Anatomie. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2021.

21. Väänänen HK, Zhao H, Mulari M, Halleen JM. The cell biology of osteoclast function. J Cell Sci. 2000;113 (Pt 3):377–81.

22. Albrektsson T, Brånemark PI, Hansson HA, Lindström J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. Acta Orthop Scand. 1981;52:155–70. doi:10.3109/17453678108991776.

23. Weber FE. Reconsidering Osteoconduction in the Era of Additive Manufacturing. Tissue Eng Part B Rev. 2019;25:375–86. doi:10.1089/ten.teb.2019.0047.

24. Davies JE. Mechanisms of endosseous integration. Int J Prosthodont. 1998;11:391–401.

25. Davies JE. Bone engineering. Toronto: EM Squared; 2000.

26. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. European Spine Journal;2001:96–101.

27. Frost HM. The Biology of Fracture Healing: An Overview for Clinicans. Part I. Clin Orthop Relat Res.;1989:283–93.

28. Eschbach L. Nonresorbable polymers in bone surgery. Injury. 2000;31 Suppl 4:22–7. doi:10.1016/s0020-1383(00)80019-4.

29. Kurtz SM. An Overview of PEEK Biomaterials. In: PEEK Biomaterials Handbook: Elsevier; 2012. p. 1–7. doi:10.1016/B978-1-4377-4463-7.10001-6.

30. Elsner Peter, Eyerer Peter, Hirth Thomas. DOMININGHAUS - Kunststoffe: Eigenschaften und Anwendungen. 7th ed. Berlin: Springer; 2007.

31. Wolff J, Wessinghage D. Das Gesetz der Transformation der Knochen. 1892nd ed. Stuttgart: Schattauer; 1991.

32. Long M, Rack H. Titanium alloys in total joint replacement—a materials science perspective. Biomaterials. 1998;19:1621–39. doi:10.1016/S0142-9612(97)00146-4.

33. Keuer H. Verbesserung der Osseointegration orthopädischer Implantate: Universität Rostock; 2014.

34. Ryan G, Pandit A, Apatsidis DP. Fabrication methods of porous metals for use in orthopaedic applications. Biomaterials. 2006;27:2651–70. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.12.002.

35. Head WC, Bauk DJ, Emerson RH. Titanium as the material of choice for cementless femoral components in total hip arthroplasty. Clinical Orthopaedics and Related Research. 1995:85–90.

36. Ramakrishna S, Mayer J, Wintermantel E, Leong KW. Biomedical applications of polymer-composite materials: a review. Composites Science and Technology. 2001;61:1189–224. doi:10.1016/S0266-3538(00)00241-4.

37. Kurtz SM. An Overview of PEEK Biomaterials. In: PEEK Biomaterials Handbook: Elsevier; 2019. p. 3–9. doi:10.1016/B978-0-12-812524-3.00001-6.

38. Macnair R, Rodgers EH, Macdonald C, Wykman A, Goldie I, Grant MH. The response of primary rat and human osteoblasts and an immortalized rat osteoblast cell line to orthopaedic materials: comparative sensitivity of several toxicity indices. J Mater Sci Mater Med. 1997;8:105–11. doi:10.1023/a:1018510900941.

39. Morrison C, Macnair R, Macdonald C, Wykman A, Goldie I, Grant MH. In vitro biocompatibility testing of polymers for orthopaedic implants using cultured fibroblasts and osteoblasts. Biomaterials. 1995;16:987–92. doi:10.1016/0142-9612(95)94906-2.

40. Wenz LM, Merritt K, Brown SA, Moet A, Steffee AD. In vitro biocompatibility of polyetheretherketone and polysulfone composites. J Biomed Mater Res. 1990;24:207–15. doi:10.1002/jbm.820240207.

41. Petillo O, Peluso G, Ambrosio L, Nicolais L, Kao WJ, Anderson JM. In vivo induction of macrophage Ia antigen (MHC class II) expression by biomedical polymers in the cage implant system. J Biomed Mater Res. 1994;28:635–46. doi:10.1002/jbm.820280514.

42. Jockisch KA, Brown SA, Bauer TW, Merritt K. Biological response to chopped-carbon-fiber-reinforced peek. J Biomed Mater Res. 1992;26:133–46. doi:10.1002/jbm.820260202.

43. Rao PJ, Pelletier MH, Walsh WR, Mobbs RJ. Spine interbody implants: material selection and modification, functionalization and bioactivation of surfaces to improve osseointegration. Orthop Surg. 2014;6:81–9. doi:10.1111/os.12098.

44. Ma R, Tang T. Current strategies to improve the bioactivity of PEEK. Int J Mol Sci. 2014;15:5426–45. doi:10.3390/ijms15045426.

45. Lovald S, Berg-Johansen B, Altiok E, Kurtz SM. Polyetheretherketone in Trauma. In: PEEK Biomaterials Handbook: Elsevier; 2019. p. 301–317. doi:10.1016/B978-0-12-812524-3.00018-1.

46. Li HM, Fouracre RA, Given MJ, Banford HM, Wysocki S, Karolczak S. The effects on polyetheretherketone and polyethersulfone of electron and γ irradiation. IEEE Trans. Dielect. Electr. Insul. 1999;6:295–303. doi:10.1109/94.775614.

47. Kurtz SM. Chemical and Radiation Stability of PEEK. In: PEEK Biomaterials Handbook: Elsevier; 2012. p. 75–79. doi:10.1016/B978-1-4377-4463-7.10006-5.

48. Dupuis A, Ho TH, Fahs A, Lafabrier A, Louarn G, Bacharouche J, et al. Improving adhesion of powder coating on PEEK composite: Influence of atmospheric plasma parameters. Applied Surface Science. 2015;357:1196–204. doi:10.1016/j.apsusc.2015.09.148.

49. Lim JY, Shaughnessy MC, Zhou Z, Noh H, Vogler EA, Donahue HJ. Surface energy effects on osteoblast spatial growth and mineralization. Biomaterials. 2008;29:1776–84. doi:10.1016/j.biomaterials.2007.12.026.

50. Poulsson AH, Eglin D, Geoff Richards R. Surface Modification Techniques of PEEK, Including Plasma Surface Treatment. In: PEEK Biomaterials Handbook: Elsevier; 2019. p. 179–201. doi:10.1016/B978-0-12-812524-3.00011-9.

51. Durham JW, Montelongo SA, Ong JL, Guda T, Allen MJ, Rabiei A. Hydroxyapatite coating on PEEK implants: Biomechanical and histological study in a rabbit model. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2016;68:723–31. doi:10.1016/j.msec.2016.06.049.

52. Lee JH, Jang HL, Lee KM, Baek H-R, Jin K, Noh JH. Cold-spray coating of hydroxyapatite on a three-dimensional polyetheretherketone implant and its biocompatibility evaluated by in vitro and in vivo minipig model. J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater. 2017;105:647–57. doi:10.1002/jbm.b.33589.

53. Toth JM, Wang M, Estes BT, Scifert JL, Seim HB, Turner AS. Polyetheretherketone as a biomaterial for spinal applications. Biomaterials. 2006;27:324–34. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.07.011.

54. Brantigan John W., Steffee Arthur D., Lewis Mary L., Quinn Linda M., Persenaire J. Maarten. Lumbar Interbody Fusion Using the Brantigan I/F Cage for Posterior Lumbar Interbody Fusion and the Variable Pedicle Screw Placement System: Two-Year Results From a Food and Drug Administration Investigational Device Exemption Clinical Trial. SPINE;2000:1437–46.

55. Glassman Andrew H., Crowninshield Roy D., Schenck Russell, Herberts Peter. A Low Stiffness Composite Biologically Fixed Prosthesis. Clinical Orthopaedics and Related Research;2001:128–36.

56. Cheng L, Nie L, Zhang L. Posterior lumbar interbody fusion versus posterolateral fusion in spondylolisthesis: a prospective controlled study in the Han nationality. Int Orthop. 2009;33:1043–7. doi:10.1007/s00264-008-0588-x.

57. Mastronardi L, Ducati A, Ferrante L. Anterior cervical fusion with polyetheretherketone (PEEK) cages in the treatment of degenerative disc disease. Preliminary observations in 36 consecutive cases with a minimum 12-month follow-up. Acta Neurochir (Wien). 2006;148:307-12; discussion 312. doi:10.1007/s00701-005-0657-5.

58. Jiya T, Smit T, Deddens J, Mullender M. Posterior lumbar interbody fusion using nonresorbable poly-ether-ether-ketone versus resorbable poly-L-lactide-co-D,L-lactide fusion devices: a prospective, randomized study to assess fusion and clinical outcome. SPINE. 2009;34:233–7. doi:10.1097/BRS.0b013e318194ed00.

59. Park H-W, Lee J-K, Moon S-J, Seo S-K, Lee J-H, Kim S-H. The efficacy of the synthetic interbody cage and Grafton for anterior cervical fusion. SPINE. 2009;34:E591-5. doi:10.1097/BRS.0b013e3181ab8b9a.

60. Chou Y-C, Chen D-C, Hsieh WA, Chen W-F, Yen P-S, Harnod T, et al. Efficacy of anterior cervical fusion: comparison of titanium cages, polyetheretherketone (PEEK) cages and autogenous bone grafts. J Clin Neurosci. 2008;15:1240–5. doi:10.1016/j.jocn.2007.05.016.

61. Kärrholm J, Anderberg C, Snorrason F, Thanner J, Langeland N, Malchau H, Herberts P. Evaluation of a femoral stem with reduced stiffness. A randomized study with use of radiostereometry and bone densitometry. J Bone Joint Surg Am. 2002;84:1651–8.

62. Thien TM, Thanner J, Kärrholm J. Fixation and bone remodeling around a low-modulus stem seven-year follow-up of a randomized study with use of radiostereometry and dual-energy x-ray absorptiometer. J Arthroplasty. 2012;27:134-142.e1. doi:10.1016/j.arth.2011.03.029.

63. Akhavan S, Matthiesen MM, Schulte L, Penoyar T, Kraay MJ, Rimnac CM, Goldberg VM. Clinical and histologic results related to a low-modulus composite total hip replacement stem. J Bone Joint Surg Am. 2006;88:1308–14. doi:10.2106/JBJS.E.00316.

64. Day J, Kurtz SM, Ong K. Isoelastic PEEK Implants for Total Joint Replacement. In: PEEK Biomaterials Handbook: Elsevier; 2019. p. 343–366. doi:10.1016/B978-0-12-812524-3.00021-1.

65. Kojic N, Rangger C, Özgün C, Lojpur J, Mueller J, Folman Y, et al. Carbon-Fibre-Reinforced PEEK radiolucent intramedullary nail for humeral shaft fracture fixation: technical features and a pilot clinical study. Injury. 2017;48:S8-S11. doi:10.1016/S0020-1383(17)30731-3.

66. Rotini R, Cavaciocchi M, Fabbri D, Bettelli G, Catani F, Campochiaro G, et al. Proximal humeral fracture fixation: multicenter study with carbon fiber peek plate. Musculoskelet Surg. 2015;99 Suppl 1:S1-8. doi:10.1007/s12306-015-0371-2.

67. Katthagen JC, Ellwein A, Lutz O, Voigt C, Lill H. Outcomes of proximal humeral fracture fixation with locked CFR-PEEK plating. Eur J Orthop Surg Traumatol. 2017;27:351–8. doi:10.1007/s00590-016-1891-7.

68. Caforio M, Perugia D, Colombo M, Calori GM, Maniscalco P. Preliminary experience with Piccolo Composite™, a radiolucent distal fibula plate, in ankle fractures. Injury. 2014;45 Suppl 6:S36-8. doi:10.1016/j.injury.2014.10.020.

69. Guzzini M, Lanzetti RM, Lupariello D, Morelli F, Princi G, Perugia D, Ferretti A. Comparison between carbon-peek plate and conventional stainless steal plate in ankle fractures. A prospective study of two years follow up. Injury. 2017;48:1249–52. doi:10.1016/j.injury.2017.03.035.

70. Mitchell PM, Lee AK, Collinge CA, Ziran BH, Hartley KG, Jahangir AA. Early Comparative Outcomes of Carbon Fiber-Reinforced Polymer Plate in the Fixation of Distal Femur Fractures. J Orthop Trauma. 2018;32:386–90. doi:10.1097/BOT.0000000000001223.

71. Tarallo L, Mugnai R, Adani R, Zambianchi F, Catani F. A new volar plate made of carbon-fiber-reinforced polyetheretherketon for distal radius fracture: analysis of 40 cases. J Orthop Traumatol. 2014;15:277–83. doi:10.1007/s10195-014-0311-1.

72. Perugia D, Guzzini M, Mazza D, Iorio C, Civitenga C, Ferretti A. Comparison between Carbon-Peek volar locking plates and titanium volar locking plates in the treatment of distal radius fractures. Injury. 2017;48:S24-S29. doi:10.1016/S0020-1383(17)30653-8.

73. Jonkergouw J, van de Vijfeijken SECM, Nout E, Theys T, van de Casteele E, Folkersma H, et al. Outcome in patient-specific PEEK cranioplasty: A two-center cohort study of 40 implants. J Craniomaxillofac Surg. 2016;44:1266–72. doi:10.1016/j.jcms.2016.07.005.

74. Brandicourt P, Delanoé F, Roux F-E, Jalbert F, Brauge D, Lauwers F. Reconstruction of Cranial Vault Defect with Polyetheretherketone Implants. World Neurosurg. 2017;105:783–9. doi:10.1016/j.wneu.2017.04.049.

75. Rosenthal G, Ng I, Moscovici S, Lee KK, Lay T, Martin C, Manley GT. Polyetheretherketone implants for the repair of large cranial defects: a 3-center experience. Neurosurgery. 2014;75:523-9; discussion 528-9. doi:10.1227/NEU.0000000000000477.

76. Ng ZY, Ang WJJ, Nawaz I. Computer-designed polyetheretherketone implants versus titanium mesh (± acrylic cement) in alloplastic cranioplasty: a retrospective single-surgeon, single-center study. J Craniofac Surg. 2014;25:e185-9. doi:10.1097/SCS.0000000000000623.

77. Zhang Q, Yuan Y, Li X, Sun T, Zhou Y, Yu H, Guan J. A Large Multicenter Retrospective Research on Embedded Cranioplasty and Covered Cranioplasty. World Neurosurg. 2018;112:e645-e651. doi:10.1016/j.wneu.2018.01.114.

78. Altiok E, Berg-Johansen B, Lovald S, Kurtz SM. Applications of Polyetheretherketone in Craniomaxillofacial Surgical Reconstruction. In: PEEK Biomaterials Handbook: Elsevier; 2019. p. 319–331. doi:10.1016/B978-0-12-812524-3.00019-3.

79. Lee JH, Jang HL, Lee KM, Baek H-R, Jin K, Hong KS, et al. In vitro and in vivo evaluation of the bioactivity of hydroxyapatite-coated polyetheretherketone biocomposites created by cold spray technology. Acta Biomater. 2013;9:6177–87. doi:10.1016/j.actbio.2012.11.030.

80. Waser-Althaus J, Salamon A, Waser M, Padeste C, Kreutzer M, Pieles U, et al. Differentiation of human mesenchymal stem cells on plasma-treated polyetheretherketone. J Mater Sci Mater Med. 2014;25:515–25. doi:10.1007/s10856-013-5072-5.

81. Noiset O, Schneider YJ, Marchand-Brynaert J. Fibronectin adsorption or/and covalent grafting on chemically modified PEEK film surfaces. J Biomater Sci Polym Ed. 1999;10:657–77. doi:10.1163/156856299X00865.

82. Noiset O, Schneider YJ, Marchand-Brynaert J. Adhesion and growth of CaCo2 cells on surface-modified PEEK substrata. J Biomater Sci Polym Ed. 2000;11:767–86. doi:10.1163/156856200744002.

83. Bonfield W, Grynpas M, Tully A, Bowman J, Abram J. Hydroxyapatite reinforced polyethylene — a mechanically compatible implant material for bone replacement. Biomaterials. 1981;2:185–6. doi:10.1016/0142-9612(81)90050-8.

84. Wang M. Hydroxyapatite-polyethylene composites for bone substitution: effects of ceramic particle size and morphology. Biomaterials. 1998;19:2357–66. doi:10.1016/S0142-9612(98)00154-9.

85. Roeder RK, Smith SM, Conrad TL, Yanchak NJ, Merrill, Christina H., Converse, Gabriel L. Porous and Bioactive PEEK Implants for Interbody Spinal Fusion. Materials and Processes for Medical Devices;2009:46–8.

86. Jarman-Smith M, Brady M, Kurtz SM, Cordaro NM, Walsh WR, Ouellette E. Porosity in PEEK. In: PEEK Biomaterials Handbook: Elsevier; 2019. p. 229–248. doi:10.1016/B978-0-12-812524-3.00013-2.

87. Nuvasive, Inc. 2017. https://www.nuvasive.com/news/nuvasive-announces-acquisition-vertera-spine/#. Zuletzt aufgerufen 18.08.2022.

88. Torstrick FB, Safranski DL, Burkus JK, Chappuis JL, Lee CSD, Guldberg RE, et al. Getting PEEK to Stick to Bone: The Development of Porous PEEK for Interbody Fusion Devices. Tech Orthop. 2017;32:158–66. doi:10.1097/BTO.0000000000000242.

89. Robotti P, Zappini G. Thermal Plasma Spray Deposition of Titanium and Hydroxyapatite on PEEK Implants. In: PEEK Biomaterials Handbook: Elsevier; 2019. p. 147–177. doi:10.1016/B978-0-12-812524-3.00010-7.

90. Mohseni E, Zalnezhad E, Bushroa AR. Comparative investigation on the adhesion of hydroxyapatite coating on Ti–6Al–4V implant: A review paper. International Journal of Adhesion and Adhesives. 2014;48:238–57. doi:10.1016/j.ijadhadh.2013.09.030.

91. Johansson P, Jimbo R, Kjellin P, Currie F, Chrcanovic BR, Wennerberg A. Biomechanical evaluation and surface characterization of a nano-modified surface on PEEK implants: a study in the rabbit tibia. International journal of nanomedicine. 2014;9:3903–11. doi:10.2147/IJN.S60387.

92. Thamaraiselvi TV, Rajeswari S. Biological Evaluation of Bioceramic Materials - A Review. Trends in Biomaterials and Artificial Organs;2004:9–17.

93. Jarcho M. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. CLINICAL ORTHOPAEDICS AND RELATED RESEARCH. 1981:259–78.

94. Wu GM, Hsiao WD, Kung SF. Investigation of hydroxyapatite coated polyether ether ketone composites by gas plasma sprays. Surface and Coatings Technology. 2009;203:2755–8. doi:10.1016/j.surfcoat.2009.02.115.

95. Hahn B-D, Park D-S, Choi J-J, Ryu J, Yoon W-H, Choi J-H, et al. Osteoconductive hydroxyapatite coated PEEK for spinal fusion surgery. Applied Surface Science. 2013;283:6–11. doi:10.1016/j.apsusc.2013.05.073.

96. Ghanaati S, Orth C, Barbeck M, Willershausen I, Thimm BW, Booms P, et al. Histological and histomorphometrical analysis of a silica matrix embedded nanocrystalline hydroxyapatite bone substitute using the subcutaneous implantation model in Wistar rats. Biomed Mater. 2010;5:35005. doi:10.1088/1748-6041/5/3/035005.

97. Gerber T, Lenz S, Holzhüter G, Götz W, Helms K, Harms C, Mittlmeier T. Nanostructured Bone Grafting Substitutes – A Pathway to Osteoinductivity. KEM. 2011;493-494:147–52. doi:10.4028/www.scientific.net/KEM.493-494.147.

98. Adam M, Ganz C, Xu W, Sarajian H-R, Götz W, Gerber T. In vivo and in vitro investigations of a nanostructured coating material - a preclinical study. International journal of nanomedicine. 2014;9:975–84. doi:10.2147/IJN.S48416.

99. Gerber T, Holzhüter G, Götz W, Bienengräber V, Henkel K-O, Rumpel E. Nanostructuring of Biomaterials—A Pathway to Bone Grafting Substitute. Eur J Trauma. 2006;32:132–40. doi:10.1007/s00068-006-6046-9.

100. Götz W, Gerber T, Michel B, Lossdörfer S, Henkel K-O, Heinemann F. Immunohistochemical characterization of nanocrystalline hydroxyapatite silica gel (NanoBone(r)) osteogenesis: a study on biopsies from human jaws. Clin Oral Implants Res. 2008;19:1016–26. doi:10.1111/j.1600-0501.2008.01569.x.

101. Xu W, Holzhüter G, Sorg H, Wolter D, Lenz S, Gerber T, Vollmar B. Early matrix change of a nanostructured bone grafting substitute in the rat. J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater. 2009;91:692–9. doi:10.1002/jbm.b.31445.

102. Abshagen K, Schrodi I, Gerber T, Vollmar B. In vivo analysis of biocompatiblity and vascularization of the synthetic bone grafting substitute Nanobone®. Wiley InterScience. 2008:557–66.

103. Adam M. Nanostrukturierte Beschichtung auf Implantaten zur Erhöhung der Osseointegration: Universität Rostock; 2013.

104. Frankenberger T. Bioaktive Beschichtung von Polyetheretherketon. Universität Rostock; 2016.

105. Frankenberger T. Strukturuntersuchungen an PEEK-Silica-Kompositen für Implantatanwendungen: Universität Rostock; 2020.

106. Evonik Operations GmbH. Campus® Datenblatt VESTAKEEP® i4 G - PEEK. 21.08.2020. https://www.campusplastics.com/campus/de/datasheet/VESTAKEEP®+i4+G/Evonik+Operations+GmbH/66/1eaf830e. Zuletzt aufgerufen 18.08.2022.

107. Agoston DV. How to Translate Time? The Temporal Aspect of Human and Rodent Biology. Front Neurol. 2017;8:92. doi:10.3389/fneur.2017.00092.

108. Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. Int J Prev Med. 2013;4:624–30.

109. Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique. J Oral Pathol. 1982;11:318–26. doi:10.1111/j.1600-0714.1982.tb00172.x.

110. King S, Baptiston Tanaka C, Ross D, Kruzic JJ, Levinger I, Klineberg I, Brennan-Speranza TC. A diet high in fat and fructose adversely affects osseointegration of titanium implants in rats. Clin Exp Dent Res. 2020;6:107–16. doi:10.1002/cre2.255.

111. Romero-Ruiz MM, Gil-Mur FJ, Ríos-Santos JV, Lázaro-Calvo P, Ríos-Carrasco B, Herrero-Climent M. Influence of a Novel Surface of Bioactive Implants on Osseointegration: A Comparative and Histomorfometric Correlation and Implant Stability Study in Minipigs. Int J Mol Sci 2019. doi:10.3390/ijms20092307.

112. Bonsignore LA, Colbrunn RW, Tatro JM, Messerschmitt PJ, Hernandez CJ, Goldberg VM, et al. Surface contaminants inhibit osseointegration in a novel murine model. Bone. 2011;49:923–30. doi:10.1016/j.bone.2011.07.013.

113. Farkasdi S, Pammer D, Rácz R, Hriczó-Koperdák G, Szabó BT, Dobó-Nagy C, et al. Development of a quantitative preclinical screening model for implant osseointegration in rat tail vertebra. Clin Oral Investig. 2019;23:2959–73. doi:10.1007/s00784-018-2661-1.

114. Walsh WR, Pelletier MH, Bertollo N, Christou C, Tan C. Does PEEK/HA Enhance Bone Formation Compared With PEEK in a Sheep Cervical Fusion Model? CLINICAL ORTHOPAEDICS AND RELATED RESEARCH. 2016;474:2364–72. doi:10.1007/s11999-016-4994-x.

115. Park PJ, Lehman RA. Optimizing the Spinal Interbody Implant: Current Advances in Material Modification and Surface Treatment Technologies. Curr Rev Musculoskelet Med. 2020;13:688–95. doi:10.1007/s12178-020-09673-5.

116. Torstrick FB, Lin ASP, Potter D, Safranski DL, Sulchek TA, Gall K, Guldberg RE. Porous PEEK improves the bone-implant interface compared to plasma-sprayed titanium coating on PEEK. Biomaterials. 2018;185:106–16. doi:10.1016/j.biomaterials.2018.09.009.

117. Ng AMH, Tan KK, Phang MY, Aziyati O, Tan GH, Isa MR, et al. Differential osteogenic activity of osteoprogenitor cells on HA and TCP/HA scaffold of tissue engineered bone. J Biomed Mater Res A. 2008;85:301–12. doi:10.1002/jbm.a.31324.

118. Hickey DJ, Lorman B, Fedder IL. Improved response of osteoprogenitor cells to titanium plasma-sprayed PEEK surfaces. Colloids Surf B Biointerfaces. 2019;175:509–16. doi:10.1016/j.colsurfb.2018.12.037.

119. Barkarmo S, Wennerberg A, Hoffman M, Kjellin P, Breding K, Handa P, Stenport V. Nano-hydroxyapatite-coated PEEK implants: a pilot study in rabbit bone. J Biomed Mater Res A. 2013;101:465–71. doi:10.1002/jbm.a.34358.

120. Johansson P, Jimbo R, Naito Y, Kjellin P, Currie F, Wennerberg A. Polyether ether ketone implants achieve increased bone fusion when coated with nano-sized hydroxyapatite: a histomorphometric study in rabbit bone. International journal of nanomedicine. 2016;11:1435–42. doi:10.2147/IJN.S100424.

121. Suska F, Omar O, Emanuelsson L, Taylor M, Gruner P, Kinbrum A, et al. Enhancement of CRF-PEEK osseointegration by plasma-sprayed hydroxyapatite: A rabbit model. J Biomater Appl. 2014;29:234–42. doi:10.1177/0885328214521669.

122. Gotz W, Papageorgiou SN. Molecular, Cellular and Pharmaceutical Aspects of Synthetic Hydroxyapatite Bone Substitutes for Oral and Maxillofacial Grafting. Curr Pharm Biotechnol. 2017;18:95–106. doi:10.2174/1389201017666161202103218.

123. Gittens RA, Olivares-Navarrete R, Schwartz Z, Boyan BD. Implant osseointegration and the role of microroughness and nanostructures: lessons for spine implants. Acta Biomater. 2014;10:3363–71. doi:10.1016/j.actbio.2014.03.037.

7. Anhang

7.1 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: Umfrage Rückenschmerzen in Deutschland 1
Abbildung 2: Wirbelsäulen-Cage aus PEEK. 2
Abbildung 3: Prinzip der Distanz- und Kontaktosteogenese 6
Abbildung 4: Chemische Struktur von PEEK 9
Abbildung 5: µCT fusionierter Wirbelkörper mit PEEK-Implantat 10
Abbildung 6: Materialien in WS-Cages 12
Abbildung 7: Skizze der verwendeten Implantate 19
Abbildung 8: Vorgebohrtes Loch im Condylus lateralis femoris. 23
Abbildung 9: Implantat im Knochen 24
Abbildung 10:Darstellung der Implantat-Positionierung durch eine µCT-Aufnahme eines linken distalen Femurs. 24
Abbildung 11: Bestimmung der anteiligen Knochenfläche 26
Abbildung 12: Bestimmung des BIC 27
Abbildung 13: Übersichtsaufnahme distaler Femur und Darstellung des periimplantären Knochenlagers 30
Abbildung 14: Repräsentative Aufnahmen des periimplantären Lagers 31
Abbildung 15: Neu gebildeter Knochen 32
Abbildung 16: Osteoklast auf der Implantatoberfläche 33

Tabelle 1: Ergebnisse Anteilige Knochenfläche 34
Tabelle 2: Ergebnisse Anteilige Knochenfläche 100 µm 35
Tabelle 3: Ergebnisse BIC 36
Tabelle 4: Ergebnisse mechanische Auszugsversuche 37

7.2 Verwendete Reagenzien (Färbungen)

Wasserstoffperoxid 35% = Merck = A.Nr.: 1.08600.1000

Giemsas Azur-Eosin-Methylenblaulösung = Merck = A.Nr.: 1.09204.0500

Toluidinblau-Pyronin-Lösung = Morphisto = A.Nr.: 12796.01000

Toluidinblau

- Lösung A: 8 g Toluidinblau-O und 8 g Na-Tetraborat in 800 ml
- Lösung B: 2 g Pyronin G in 200 ml Aqua dest. lösen

7.3 Protokoll für Giemsa-Toluidinblau-Färbung

In 10%igen Wasserstoffperoxid anätzen ➢ 57 ml Wasserstoffperoxid (35 %) in 200 ml Aqua dest. ➢ Präparate ganze Zeit schwenken	5 min
Leitungswasser	Spülen
Giemsa ➢ Giemsa Stammlösung auf Objektträger tropfen	20 min
Leitungswasser	Spülen
Toluidinblau ➢ Lösung A auf Magnetrührer lösen ➢ Lösung B auf Magnetrührer lösen ➢ Lösung A + B auf Magnetrührer mischen, 2 mal filtrieren	 15 min 15 min 15 min
Leitungswasser	Abspülen
Schliff trocknen	
Mit 70 % Ethanol differenzieren	
Eindecken mit Technovit 7200VLC (ohne BPO) ➢ Unter Blaulicht ➢ Objektträger mit Aceton reinigen	5 min

8. Thesen

1. In verschiedenen chirurgischen Disziplinen wird stetig nach Implantatwerkstoffen gesucht, die eine zeitnahe und belastungsstabile ossäre Integration ermöglichen, und diese auch langfristig gewährleisten.

2. Obwohl sich Titan-Implantate für viele Anwendungszwecke über Jahrzehnte bewährt haben, kann durch eine hohe Steifigkeit von Titan der Abbau periimplantären Knochens und somit der Verlust von Implantaten resultieren.

3. Aufgrund einer Steifigkeit, die der des Knochens ähnelt, und weiteren geeigneten mechanischen Eigenschaften hat sich das Polymer Polyetheretherketon (PEEK) als Implantatwerkstoff bei bestimmten Indikationen etabliert.

4. Da die bioinerte Oberfläche des Polymers die Osseointegration erschwert, ist die Modifikation der Polymeroberfläche Gegenstand aktueller Forschung.

5. Die untersuchte Oberflächenbeschichtung mit Silica-Hydroxylapatit zeigte *in vivo* eine gute Biokompatibilität.

6. Die Beschichtung erhöht die Osteokonduktivität der Implantatoberfläche, es kommt zur Ausbildung signifikant größerer Kontaktflächen zwischen Implantat und Knochen.

7. Durch das nanoporös strukturierte Interface zwischen Polymer und Beschichtung wird ein vollständiger Abbau des Knochenersatzmaterials verhindert, sodass es zu keiner Freilegung der bioinerten Oberfläche des Polymers kommt.

8. Die Kraft, welche benötigt wurde, um die Implantate in biomechanischen Auszugsversuchen aus dem Knochenlager zu lösen, verdreifachte sich durch die Beschichtung.

9. Die Osseointegration von PEEK-Implantaten kann durch Beschichtung mit Silica-Hydroxylapatit unter Herstellung eines nanoporös strukturierten Interfaces langfristig verbessert werden.

9. Curriculum vitae

Der Lebenslauf ist aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version nicht verfügbar.

10. Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass diese Arbeit bisher von mir weder an der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock noch an einer anderen wissenschaftlichen Einrichtung zum Zwecke der Promotion eingereicht wurde.

Ferne erkläre ich, dass ich diese Arbeit selbständig verfasst habe und keine anderen als die in der Promotionsschrift angegebenen Hilfsmittel verwendet habe.

Rostock, den 13.09.2022

_____

Constantin Leon Graw

11. Danksagung

Für die Nutzung der Laboratorien und Ressourcen in der Klinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie in Rostock, danke ich Herrn Prof. Dr. Dr. Bernhard Frerich.

Für die Möglichkeit der Promotion, sowie stets gewährte und uneingeschränkte Unterstützung bei Problemen und Fragestellungen innerhalb der Arbeit möchte ich mich bei Herrn PD Dr. Dr. Michael Dau bedanken.

Herrn Dr. Thomas Frankenberger möchte ich für die Herstellung der Implantate, sowie für seine Unterstützung bei der Versuchsdurchführung danken.

Ein weiterer Dank geht an Daniel Wolter für die Herstellung und Digitalisierung der histologischen Schliffe.

Für die hilfreichen Hinweise bei der histologischen Auswertung möchte ich Herrn Prof. Dr. Werner G tz, Leiter des Labors f r Oralbiologische Grundlagenforschung der Universit t Bonn, danken.

Für die mittlerweile über 27 Jahre andauernde Unterstützung und Förderung meiner persönlichen, schulischen und akademischen Bildung danke ich von Herzen meinen Eltern Sabine Graw und Dr. Michael Graw. Ohne euren nie enden wollenden Rückhalt wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen, daher möchte ich sie euch widmen.