

## **3. Ergebnisse**

### **3.1 Lichtmikroskopie**

Die Ergebnisse sind in **Tab. 3.1.1** (s. S. 167 ff.) zusammengefasst.

#### **3.1.1 Erscheinungsbild vor Implantation**

Die Zylinder hatten ein weißes bis leicht bräunlich geschecktes Aussehen, glatte Zirkumferenzen und ein rauhes, teils unebenes proximales und distales Ende. Nur vereinzelt bestanden kleine Risse oder Spalten. Die Implantate waren instabil, eines zerbrach bei Implantation. Unterschiede zwischen den Materialien waren nicht ersichtlich.

#### **3.1.2 Liegezeit 7 Tage**

Die Tiere hatten durchschnittlich 10 % bis 16 % des Körpergewichtes (KG) verloren, unabhängig von der Art des implantierten Materials. 2 Tiere (98-1044 und 98-1045) mit HEMA-OA-Implantaten hatten einen Kniegelenkserguß rechts.

##### **3.1.2.1 Gewebeantwort**

Die Implantate lagen nicht pressfit im Implantatbett mit wenigen Resten des postoperativen Exsudates und Hämatoms. Die durch Sägen des Implantatbettes entstandenen Knochenfragmente wurden ausgelaugt und zellulär durch Makrophagen und Riesenzellen abgebaut (**s. Abb. 3.1.4, 3.1.6 u. 3.1.7, Abb. Kapitel 3 s. S. 96 ff.**). Nur vereinzelt fanden sich Riesenzellen auf den Implantaten. Erstes Organisationsgewebe mit teils ektatischen Kapillaren wuchs von den Rändern des Implantatbettes her ein.

PLL-OA umgab ein deutliches, polymorphkerniges, neutrophile Granulozyten aufweisendes, entzündliches Infiltrat sowie viele mit phagozytiertem Material gefüllt erscheinende Makrophagen. Die Resorption und Ausbildung von Organisationsgewebe lag bei PLL-OA hinter den anderen zurück (**s. Abb. 3.1.1**).

HEMA-OA nahm eine Mittelstellung ein (**s. Abb. 3.1.2**). Es fielen hier vermehrt Makrophagen am Implantat auf. Bei Indo-OA fand sich nur eine milde postoperative Reaktion mit vereinzelt Rundzellen (**s. Abb. 3.1.3 bis 3.1.7**). Entlang der Ränder des Implantatbettes und auf angesägten Knochen trabekeln zeigten sich osteoidbildende

Osteoblastensäume, deren Produktion neuer Knochenmatrix von Indo-OA über HEMA-OA nach PLL-OA abnahm. Knochenbindung fand sich nur bei HEMA-OA und Indo-OA, wobei die Knochenbindung bei HEMA-OA v.a. aus primärem Knochenkontakt bestand, während sich bei Indo-OA bereits neuer, noch unreifer Geflechtknochen gebildet hatte (**s. Abb. 3.1.3 bis 3.1.5**). Hierbei konnten Knochenmehlpartikel zum Kristallisationspunkt der Knochenneubildung und in sich bildende Bälkchen eingebaut werden. Die Knochenneubildung entlang der Epiphysenfuge war über alle Liegezeiten am stärksten. Wurde diese durch Anlage des Bohrlochs durchtrennt oder angeschnitten, zeigte sich hier auch vermehrte Knochenbildung am Interface.

An wenigen Implantaten von PLL-OA, vor allem an solchen mit starker entzündlicher Reaktion und Bewegungsartefakten, sowie bei Indo-OA fanden sich im umgebenden Weichgewebe geringe Mengen einer metachromatischen, präzipitierten Substanz, welche möglicherweise aus dem Implantat ausgewaschen oder abgerieben wurde. Es fanden sich dann auch vermehrt Makrophagen, die angefüllt mit phagozytiertem Material an Schaumzellen erinnerten (**s. Abb. 3.1.12**).

Spaltbildung im Rahmen der Materialaufarbeitung durch Dehydrierung und Schrumpfungartefakte zeigte sich hauptsächlich zwischen Knochen und Implantat ohne größere oberflächliche Implantatabbrüche, was auf eine noch lockere Verbindung des Knochens am Implantat schließen ließ (**s. Abb. 3.1.3 bis 3.1.5**).

### **3.1.2.2 Materialantwort**

Die Implantatoberfläche war weitgehend unverändert, wobei die meisten Veränderungen bei PLL-OA vorlagen. Es waren bereits erste Degradationszeichen, wie Verfärbungen durch Proteineinlagerungen und oberflächliche Schollenbildung, sichtbar (**s. Abb. 3.1.8 u. 3.1.10**). HEMA-OA-Implantate erschienen am stabilsten. Sie wiesen die wenigsten in-vivo-Brüche / Spalten auf, gekennzeichnet durch Auslaugungssaum, Proteineinlagerungen und / oder Zellbesatz, welche möglicherweise bei der Implantation entstanden waren. Die überwiegende Zahl der Brüche durch die Implantate waren artifiziell (kein Auslaugungssaum oder Zellbesatz) durch die Aufarbeitung bedingt, bei denen sich kein Materialunterschied zeigte.

Die Implantate wiesen in der Kossa / Paragon-Färbung (**s. Abb. 3.1.1, 3.1.11 u. 3.1.18**) eine schwarz-braun präzipitierte Struktur wie Knochen in der Kossa-Färbung auf, nach Zugabe von Immersionsöl braun-dunkelrot präzipitiert. Eingelagert waren rote Schollen

unterschiedlicher Größe, die zentrifugal bis vor den Auslaugungssaum zunahmen. Durch Auslaugung ging diese schollige Komponente und die schwarz-braun präzipitierte Färbung verloren. Es verblieb eine relativ homogene rot / bräunliche Färbung in der ausgelaugten Außenzone. An der Grenze zwischen ausgelaugtem und unausgelaugtem Implantatanteil bestand v.a. in der Giemsa-Färbung eine dunkel-präzipitiert erscheinende Übergangszone (**s. Abb. 3.1.23**).

In der Giemsa-Färbung stellte sich die Innenzone dunkel präzipitiert, nach Zugabe von Immersionsöl homogen fliederfarben, nach außen ins bläuliche übergehend dar. Die Schollen waren hell ockerfarben (ähnlich dem Färbeverhalten des Knochens) wie die ausgelaugte Außenzone (**s. Abb. 3.1.9, 3.1.23 u. 3.1.24**).

Es zeigten sich v.a. nach 28d in der Innenzone helle kristallartige Strukturen, die von einem hellen Halo umgeben waren (Bild eines Sternenhimmels) und nach außen bei fortschreitender Auslaugung abnahmen (**s. Abb. 3.1.11, 3.1.16 u. 3.1.24**).

Die Grundlage der Affinität der Farbstoffe für bestimmte azelluläre und zelluläre Strukturen ist im einzelnen nicht bekannt.

Vor allem im ausgelaugten Bereich fielen bei HEMA-OA und Indo-OA bei allen Liegezeiten in beiden Färbungen schwarze Körnchen unterschiedlicher Größe von ca. 1-2  $\mu\text{m}$  auf (**s. Abb. 3.1.23 u. 3.1.24**), welche in den Schollen unterschiedlich häufig auftraten und im polarisierten Licht nicht fluoreszierten. Diese sind in geringeren Mengen auch in den Implantaten der Vorversuche 1993 und 1994 nachweisbar, traten dort vereinzelt auch bei PLL-OA auf. Im umliegenden Gewebe waren sie nicht zu finden.

### **3.1.3 Liegezeit 28 Tage**

Die Tiere mit HEMA-OA- und Indo-OA-Implantaten hatten ihr ursprüngliches Gewicht wieder erreicht und leicht zugenommen (-10 % bis +4 % des KG), während solche mit PLL-OA-Implantaten im Mittel noch unter ihrem Ausgangsgewicht (-7 % bis 0 % des KG) lagen. Die Tiere 98-1013, 98-1015 und 98-1016 mit PLL-OA-Implantaten mussten beidseitig wegen abgeknabberter Nähte nachgenäht werden. Die Tiere 98-1014 und 98-1015 hatten bei Explantation beidseits Kniegelenksergüsse, bei 98-1015 leicht hämorrhagisch. Diese Sekundärparameter können somit die Implantatverträglichkeit widerspiegeln.

### 3.1.3.1 Gewebeantwort

Nach 28d bestand o.g. Reaktionsgefälle fort. Bei PLL-OA hatte sich die entzündliche Reaktion auf kleine lokalisierte Restinfiltrate im Randbereich des Implantationsgebietes zurückgebildet (s. **Abb. 3.1.9**). Der Abbauprozess von Gewebedebris lag am weitesten zurück (s. **Abb. 3.1.10**). Zonen der Knochenresorption waren nachweisbar, die Knochenbildungsaktivität war am geringsten. Beginnende Ausbildung eines Knochenringes / -zylinders um das Implantat (s. **Abb. 3.1.11**), jedoch fand sich nur wenig Kontakt von unreifem Faserknochen am Interface. Organisation des vormals lockeren, faserigen Gewebes zwischen Knochen und Implantat unter Ausbildung einer bindegewebig-faserigen Umscheidung unterschiedlicher Dicke und Dichte, insbesondere an den ventralen Anteilen der Implantate (Patella-nah) (s. **Abb. 3.1.9, 3.1.11 u. 3.1.34**). Diese Reaktion war stärker als 1993, aber weniger stark als 1994. Das umgebende Gewebe zeigte eine leichte Markraumfibrose.

Die Zahl der Makrophagen im Interface war abhängig von der Stärke der entzündlichen Reaktion und von Bewegungsartefakten mit Produktion zu phagozytierenden Abriebs, wie z.B. der o.g. metachromatischen Substanz (s. **Abb. 3.1.12**). Die Verteilung war inhomogener, aber von PLL-OA über HEMA-OA nach Indo-OA abnehmend.

Auf Implantatpartikeln unterschiedlicher Größe, die durch Abbruch bei Implantation oder durch Degradation Kontakt zum Implantat verloren hatten, befanden sich viele Riesenzellen, oft mit den Charakteristika von Fremdkörperriesenzellen (s. **Abb. 3.1.13**).

Bei Vorhandensein von RZ auf der Implantatoberfläche zeigte sich oft eine stärkere Auslaugung im angrenzenden Randbereich. Je stärker ein Implantat fragmentiert oder von Bindegewebe umschieden war, um so mehr Fremdkörperriesenzell-ähnliche Zellen (FKRZ) (s. **Abb. 3.1.13**), je höher der Anteil von Knochenbindung und nicht faserigem Weichgewebe, desto mehr Osteoklasten-ähnliche Zellen (OCLC) fanden sich (s. **Abb. 3.1.14 und 3.1.15**).

HEMA-OA nimmt bei der Gewebereaktion wiederum eine Zwischenstellung ein.

Das Interface von Indo-OA wirkte am „aufgeräumtesten“ mit der geringsten entzündlichen / faserigen Reaktion und dem besten Abbau von Gewebedebris. Die Knochenneubildungsaktivität war gut, der umschließende Knochenzylinder / -ring fast komplett ausgebildet (s. **Abb. 3.1.16**). Der am Implantat inserierende Knochen erschien reifer (Faser- / Lamellenknochen). Die Insertionsart war wechselnd, verschob sich aber von mehr umschließend mit Faserknochen, teils noch durch Osteoidsäume getrennt bei HEMA-OA

nach mehr bälkchenartig mit Lamellenknochen bei Indo-OA. Ausgereifter lamellärer Knochen weist weniger Osteozyten auf als neu gebildeter Faserknochen. Das Insertionsprofil der Bälkchen und Oberflächen angrenzender Lakunen erinnerte vereinzelt an Baud-Kurven [134].

In einigen Präparaten fand die Ausbildung von Knochenkontakt z.T. über Verknöcherung von Chondroid statt, welcher entweder bei Implantation vom Patellagleitlager oder von der Epiphysenfuge verschleppt wurde, und welches zu einer stärkeren Knochenbildung in den entsprechenden Bereichen führte (**s. Abb. 3.1.17**). Ursächlich weniger wahrscheinlich scheint die bei instabilen Frakturen morphologisch und molekularbiologisch beobachtete intramembranöse / enchondrale Ossifikation zu sein [135].

Über alle Implantate gleichmäßig verteilt kam es gelegentlich zur Ausbildung von Pseudoganglien (**s. Abb. 3.1.18**), möglicherweise als Zeichen eines Bewegungsartefaktes bei nicht pressfit Implantation. Hierin sowie im umliegenden Gewebe fanden sich dann meist die oben beschriebene metachromatische Substanz und Makrophagen. Die Menge hatte gegenüber 7d Liegezeit zugenommen.

In den Sagittalschnitten zeigte sich der subchondrale Knochendeckeldefekt zum Gelenkraum faserig-bindegewebig durchbaut, von den Seiten begann Knochen einzuwachsen. Er war von noch ungeordnetem, teils hyalinem, teils faserigem Regeneratknorpel überdeckt. Dicke und Güte schwankten interindividuell (**s. Abb. 3.1.19 u. 3.1.20**).

Der Vorversuch 1993 zeigte ein sehr ähnliches Muster der Gewebereaktion.

Der Vorversuch 1994 zeigte aufgrund des kleineren Implantatdurchmessers - wahrscheinlich als Ausdruck eines Bewegungsartefaktes - eine fast komplette faserige Umscheidung aller Implantate, aber von PLL-OA nach Indo-OA abnehmend. Im übrigen entsprach die Gewebeantwort der des Vorversuches 1993.

Im Versuch 1998 fiel insgesamt ein höherer Prozentsatz von Osteoid im Verhältnis zu Knochen auf (**s. Abb. 3.1.16**). Dies könnte einerseits eine Verknöcherungshemmung zeigen, andererseits methodische Ursachen gehabt haben. 1993 und 1994 wurde mit der Kossa / Fuchsin Färbung gefärbt, 1998 mit der Kossa / Paragon Färbung. Schnitte aus dem Versuch 1993, welche mit Kossa / Paragon gefärbt wurden, zeigten auch deutlich höhere Osteoid-Anteile. Allerdings war auch in den 1998er Giemsa-gefärbten Schnitten ein höherer Osteoid-Anteil zu verzeichnen, was auf einen Materialeffekt deutet.

### **3.1.3.2 Materialantwort**

Die PLL-OA Implantate zerfielen mehr, als zellulär degradiert zu werden. Die Implantate zeigten den meisten oberflächlichen Abbruch, aber kaum Lakunen. Die Auslaugung schritt weiter fort.

Bei der Auslaugung bestand generell eine große Variabilität innerhalb aller Implantatchargen. Diese war abhängig vom Implantat, Implantationsbett sowie der Schnittaufarbeitung, insbesondere der Färbung und Schnittstärke, welche nicht absolut standardisierbar waren. Auffällig war eine stärkere Auslaugung bei Knochen- / Weichgewebekontakt und eine geringere Auslaugung bei faseriger Umscheidung / Kontakt mit festem Bindegewebe (s. **Abb. 3.1.21**).

Indo-OA und HEMA-OA waren oberflächlich kaum verändert. Die Oberfläche war im Vergleich mit dem Versuch 1993 sehr glatt mit wenigen Lakunen (s. **Abb. 3.1.22 u. 3.1.24**). Die Auslaugung schritt weiter wie o.g. fort (s. **Abb. 3.1.21 u. 3.1.23**). Zusätzlich kam es zum Herausfallen kleiner Schollen aus dunkler gefärbten Anteilen der Implantatoberfläche. HEMA-OA-Implantate erschienen bei geringerer Zahl von in-vivo-Spalten / Brüchen stabiler als Indo-OA (s. **Abb. 3.1.25**). Das Implantatmaterial zeigte sich damit andererseits zumindest als osteokonditiv. Bei allen Implantaten konnte es bei Knochenkontakt oder oberflächigem Abbruch zur Verfärbung durch Proteineinlagerungen / Verkalkung kommen (s. **Abb. 3.1.26**).

Die Implantate des Vorversuches 1993 zeigten ein ähnliches Reaktionsmuster. Die Implantatoberflächen waren bei o.g. Reaktionsgefälle (von PLL-OA über HEMA-OA nach Indo-OA) deutlich stärker verändert, z.T. war die Originaloberfläche verlorengegangen und es fanden sich mehr Lakunen. Im angrenzenden Gewebe fanden sich viele kleinere Implantatpartikel, als ob das Implantat in seinen äußeren Schichten zerfiel. Die Implantate waren stärker ausgelaugt, die beschriebenen Schollen in der Implantatmatrix kleiner. Es waren auch die kristallartigen Strukturen mit hellem Halo und die schwarze körnige Substanz, welche in geringeren Mengen und inhomogener verteilt auftrat, zu finden.

Der Vorversuch 1994 zeigte die gleiche Materialantwort wie Vorversuch 1993.

### **3.1.4 Liegezeit 84 Tage**

Nach 84 Tagen Liegezeit bestanden kaum Gewichtsunterschiede. Tiere mit PLL-OA-Implantaten hatten +4 % bis +20 % des KG, mit HEMA-OA-Implantaten +10 % bis +15 %

des KG und mit Indo-OA-Implantaten um +10 % des KG zugenommen. Bei dem Tier 98-1011 (Indo-OA) musste eine Nahtkorrektur durchgeführt werden. Das Implantat 97-1055 links (PLL-OA, Lichtmikroskopie) zerbrach wegen der Fragilität zur Hälfte während der Implantation.

#### **3.1.4.1 Gewebeantwort**

Bei PLL-OA zeigten sich nur noch wenige Nester hauptsächlich lymphozytärer Rundzellinfiltrate. Der Bereich des Interfaces war jetzt ebenfalls aufgeräumt. Sägedebris war größtenteils phagozytiert und zu einem kleineren Teil in Knochen eingebaut worden. Zwischen der faserigen Umscheidung und dem Implantat kam es häufiger zur Bildung von Spalten / Höhlen. Fand sich darin metachromatische Substanz, kam es wie oben beschrieben zu einem gehäuften Auftreten von Makrophagen, welche aber allgemein nicht gegenüber HEMA- und Indo-OA vermehrt waren. Die Knochenbildungsaktivität war noch deutlich schlechter, der ausgebildete Knochenring nur partiell oder sehr dünn. Der Knochen in Kontakt zum Implantat war unreifer. Zerfiel das Implantat oberflächlich, so kam es an den Bruchstücken zu einer starken Anhäufung von FKRZ (**s. Abb. 3.1.13 u. 3.1.28**), nur vereinzelt sah man Knochenbindung (**s. Abb. 3.1.27**). In der Implantatumgebung fanden sich relativ viele ektatische Gefäße.

Bei HEMA-OA zeigte sich keine entzündliche Reaktion. Makrophagen am Interface zeigten sich bei Vorhandensein einer metachromatischen Substanz unterschiedlich häufig. Bruchstücke waren komplett phagozytiert worden, es bestand nur eine geringe faserige Reaktion. Meist umgab ein komplett ausgebildeter Knochenring / -zylinder das Implantationsgebiet. Die Knochenbildungsaktivität war rückläufig. Der meist reife, lamelläre Knochen inserierte meist bälkchenartig auf dem Implantat. Auffällig war wieder eine Knochen und Implantat trennende Osteoidlamelle (**s. Abb. 3.1.29 u. 3.1.30**). Bei ringförmiger Knocheninsertion lag die genannte artifizielle Spaltbildung durch Schrumpfungartefakte meist zwischen Knochen und Implantat, bei bälkchenartiger Knocheninsertion kam es mit dem Knochen oft zu einem oberflächlichen Implantatabbruch. Kein solcher Abbruch fand sich an Stellen mit Weichgewebekontakt. Die bälkchenartige Insertion schien somit eine stabilere Verbindung zum Implantat bilden zu können. Unabhängig davon könnte dies andererseits eine zunehmende Brüchigkeit der Oberfläche widerspiegeln (**s. Abb. 3.1.30 u. 3.1.31**).

Lakunäre Veränderungen traten hauptsächlich dort auf, wo Knochen- / Weichgewebekontakt am Interface bestand (s. **Abb. 3.1.32**). Dort, wo faseriges Bindegewebe am Interface war, sah man kaum Lakunen, sondern mehr Oberflächenerosion (s. **Abb. 3.1.36**).

Indo-OA zeigte ein ähnliches Reaktionsmuster. Im Vergleich zu HEMA-OA war jedoch mehr metachromatische Substanz detektierbar und es traten tendenziell mehr Makrophagen auf. Es zeigte sich im Vergleich zu HEMA-OA weniger Knochenbindung, wobei dies v.a. darauf beruhte, dass an 2 Implantaten (98-1007R und 98-1010L) überhaupt keine Knochenbindung auftrat. Bei diesen fiel eine deutlichere faserig-bindegewebige Reaktion sowie mehr metachromatische Substanz und Makrophagen auf. Bei einem der Implantate (98-1007R) sah man Zeichen einer leichten chronischen Entzündung mit vereinzelt Rundzellinfiltraten. Die übrigen Implantate zeigten eine vergleichbare oder teils höhere Knochenbindung als HEMA-OA (s. **Abb. 3.1.33**).

In den Sagittalschnitten war der Knorpel- / Knochendeckeldefekt faserig-bindegewebig aufgebaut. Es wurde keine knöcherne Durchbauung erreicht (critical size defect). Gegenüber dem Gelenkraum zeigte sich ungeordneter, meist zellreicher, teils vakuoliger, hyaliner oder faseriger Regeneratknorpel. Dicke und Güte des Regeneratknorpels schwankte interindividuell, eine vollständige Regeneration wurde nicht erreicht (s. **Abb. 3.1.34**).

#### **3.1.4.2 Materialantwort**

Die PLL-OA Implantate waren in vivo teils stark fragmentiert mit teils zellulär besiedelten (Organisationsgewebe, Kapillaren) Spalten. Es fand sich ebenfalls eine stark degradierte Oberfläche (s. **Abb. 3.1.35 u. 3.1.36**).

Bei HEMA-OA und Indo-OA bestanden kaum Unterschiede. Die Auslaugung war weiter fortgeschritten (s. **Abb. 3.1.33**). Die Implantate waren weitgehend intakt, bei wenig veränderter Oberfläche. Es bestand nur geringer Abbruch, bei Indo-OA tendenziell etwas mehr. Das Ausmaß der Oberflächenveränderungen nahm in den Sagittalschnitten von ventral nach dorsal zu und war wie o.g. abhängig von der Reaktion am Interface (s. **Abb. 3.1.34**).

#### **3.1.5 Histomorphometrie**

Die numerischen Daten sind den entsprechenden Tabellen zu entnehmen. Sie werden als Mittelwert mit Standardabweichung, Median und Signifikanzniveau angegeben. Zahlenangaben im Text geben Mittelwert mit Standardabweichung wieder.

### **3.1.5.1 Gewebeantwort**

#### **3.1.5.1.1 Gewebekontaktzonen und Riesenzellen am Interface**

Es wurden die Kontaktzonen von Knochen, Osteoid, Chondroid und Weichgewebe an der Implantatoberfläche in Prozent der gesamten Implantatoberfläche berechnet sowie die Anzahl der Riesenzellen pro mm Implantatoberfläche in Kontakt zu Weichgewebe bestimmt. Zur Vortestung wurde der Kruskal Wallis Test (KWT) und zur Testung auf Signifikanz zweier Gruppen in Folge der Mann Whitney Test (MWT) verwendet. Zur Testung der Zunahme über einen Zeitraum wurde auch der Jonckheere-Terpstra-Test (JTT) verwendet. Die Ergebnisse finden sich in **Tab. 3.1.2 bis 3.1.5 (S. 167 ff.) u. Graph. 3.1.1 bis 3.1.16 (S. 126 ff.)**.

##### **3.1.5.1.1.1 Knochenkontakt**

Nach 7d zeigen Indo-OA und HEMA-OA signifikant mehr Knochenbindung als PLL-OA. Bei allen Materialien kommt es zu einer Zunahme im Vergleich von 7d nach 28d und 7d nach 84d Liegezeit. Nach 28d zeigt Indo-OA signifikant mehr Knochenbindung als HEMA-OA, welches signifikant mehr als PLL-OA zeigt. Zwischen 28d und 84d Liegezeit kommt es zu einer weiteren Zunahme bei PLL-OA, HEMA-OA zeigt keinen Unterschied, Indo-OA eine trendhafte Abnahme. HEMA-OA zeigt nach 84d signifikant mehr Knochenbindung als PLL-OA und trendhaft mehr als Indo-OA, kein Unterschied zwischen letzteren (**s. Graph. 3.1.1**).

##### **3.1.5.1.1.2 Osteoidkontakt**

Nach 7d zeigte sich signifikant mehr Osteoid bei Indo-OA als bei den beiden anderen. Im Vergleich 7/28d und 7/84d kam es bei allen Materialien zu einer Zunahme. Nach 28d zeigte PLL-OA signifikant weniger Osteoid als Indo-OA und HEMA-OA, kein Unterschied zwischen letzteren. Im Vergleich der Liegezeiten 28d und 84d kam es nur bei PLL-OA zu einer signifikanten Zunahme, HEMA-OA zeigte keinen Unterschied, Indo-OA eine signifikante Abnahme. Nach 84d zeigte sich wie beim Knochenkontakt bei HEMA-OA signifikant mehr Osteoid als bei PLL-OA und trendhaft mehr als bei Indo-OA, kein Unterschied zwischen letzteren. Auffällig war das relativ höhere Niveau der Osteoid-Werte 1998 gegenüber den Vorversuchen 1993 und 1994 (**s. Graph. 3.1.2**).

#### **3.1.5.1.1.3 Versuch 1993**

Der Vorversuch 1993 mit 28d Liegezeit (**s. Tab. 3.1.3 u. Graph. 3.1.3 u. 3.1.5**) zeigte ein ähnliches Ergebnis. Indo-OA zeigte signifikant mehr Knochen- und Osteoidkontakt als HEMA-OA, welches signifikant mehr als PLL-OA zeigte.

#### **3.1.5.1.1.4 Versuch 1994**

Der Vorversuch 1994 mit einer 28 tägigen Liegezeit (**s. Tab. 3.1.3 u. Graph. 3.1.4 u. 3.1.6**) ergab bei genannt eingeschränkter Beurteilbarkeit ein ähnliches Bild. Wiederum zeigte Indo-OA signifikant mehr Knochenkontakt als PLL-OA. HEMA-OA nahm eine Mittelstellung ein, ohne signifikanten Unterschied zu den beiden anderen. HEMA-OA und Indo-OA zeigten signifikant mehr Osteoidkontakt als PLL-OA, zwischen ersteren kein Unterschied.

#### **3.1.5.1.1.5 Chondroid am Interface**

Es wurden die Anteile von Chondroid am Interface vermessen und berechnet (**s. Tab. 3.1.2 bis 3.1.5 u. Graph. 3.1.7**). Es zeigte sich weder ein relevanter Materialeffekt noch ein Zeiteffekt, so dass wir diese Werte vor allem vor dem Hintergrund quantitativ nicht ins Gewicht zu fallen, vernachlässigten und als Zufallsbefund werteten (Auch wenn nach 28d Liegezeit Indo-OA und HEMA-OA signifikant mehr Chondroid zeigten als PLL-OA, mit einer signifikanten Zunahme zur Liegezeit 28d und dann wieder Abnahme auf Ausgangsniveau.). Im Versuch 1993 ließ sich kein Chondroid, im Versuch 1994 nur in geringen Mengen bei Indo-OA nachweisen, ohne signifikanten Unterschied zu den anderen.

#### **3.1.5.1.1.6 Weichgewebe am Interface**

Das Weichgewebe aufgrund seiner Definition als Nicht-Knochen, Nicht-Osteoid und Nicht-Chondroid, sozusagen als Negativ der anderen Meßparameter, wurde nicht weiter gewürdigt. Zur graphischen Darstellung **s. Graph. 3.1.8**.

#### **3.1.5.1.1.7 Lokalisation des maximalen Knochenkontaktes**

Es wurde weiterhin die Lokalisation des maximalen Knochenkontaktes bestimmt, welche in den **Graph. 3.1.9** (frontale Schnittführung) **u. 3.1.10** (sagittale Schnittführung) dargestellt ist unter Angabe der Prozentwerte. Nach 7d bestand sehr wenig Knochenbindung, welche

gleichmäßig über das Implantat verteilt war. Nach 28d überwog die Knochenbindung am proximalen Interface, um nach 84d wieder relativ gleichmäßig verteilt zu sein mit einem Schwergewicht im dorsalen Bereich bei den Sagittalschnitten. Dies erklärt sich aus der Durchblutungssituation des Interfaces und der Druckausübung durch die Patella nach dorsal.

### **3.1.5.1.2 Bildung von Fasergewebe am Interface**

Es wurde die Dicke der vorhandenen faserigen Reaktion in  $\mu\text{m}$  als auch die Lokalisation der maximalen Bindegewebsdicke bestimmt, welche in den **Tab. 3.1.2 bis 3.1.5** und den **Graph. 3.1.11 bis 3.1.13** unter Angabe der Prozentwerte dargestellt ist. Bei PLL-OA war ein weiteres Implantat hinsichtlich des Meßparameters nicht auswertbar, daher konnten nur 8 Schnitte ausgewertet werden. Im Jonckheere Terpstra Test (JTT) zeigt sich eine Zunahme über die Zeit bei allen Materialien. Die Testung auf Signifikanz zwischen 2 Liegezeiten erfolgte mit dem Duncan Test (DT).

Nach 7d bestand kein Materialunterschied. Im Vergleich 7/28d kam es bei PLL-OA und HEMA-OA zu einer signifikanten Zunahme, nicht jedoch bei Indo-OA, was auf seinem Ausgangswert verblieb. Nach 28d zeigte PLL-OA signifikant mehr Bindegewebsdicke am Implantat als HEMA-OA, welches signifikant mehr als Indo-OA zeigte. Im Vergleich 28/84d zeigte sich bei HEMA-OA und Indo-OA eine weitere signifikante Zunahme, nicht jedoch bei PLL-OA. Nach 84d hatten sich somit die Bindegewebsdicken aneinander angeglichen. Indo-OA zeigte trendhaft weniger als HEMA-OA, PLL-OA keinen Unterschied zu den anderen.

Im Versuch 1993 zeigte sich ein ähnliches Bild auf niedrigerem Niveau. In der Anova war ein Materialunterschied detektierbar. PLL-OA zeigte im DT signifikant mehr faseriges Bindegewebe am Interface als HEMA-OA und Indo-OA.

Hinsichtlich der Lokalisation zeigte sich insgesamt kein relevanter Unterschied. Nach 28d überwog leicht die distale und nach 84 Tagen in den Sagittalschnitten die proximale (v.a. ventraler Anteil) Implantatseite.

### **3.1.5.1.3 Riesenzellen am Interface**

#### **3.1.5.1.3.1 Riesenzellen/mm**

##### **3.1.5.1.3.1.1 Versuch 1998**

Nach 7d zeigten PLL-OA und Indo-OA signifikant mehr RZ/mm als HEMA-OA, kein Unterschied zwischen ersteren. Im Vergleich 7/28d und 7/84d kam es bei allen Materialien zu

einer Zunahme. Nach 28d zeigten Indo-OA und HEMA-OA signifikant mehr RZ/mm als PLL-OA, kein Unterschied zwischen ersteren. Im Vergleich 28/84d kam es nur bei PLL-OA zu einer signifikanten Zunahme, HEMA-OA zeigte nur einen Trend zur Zunahme, Indo-OA keine Änderung. Nach 84d bestand nur ein trendhafter Materialunterschied, bei weiterer Testung zeigte PLL-OA einen Trend zu geringerer Anzahl an RZ/mm als Indo-OA und HEMA-OA, kein Unterschied bestand zwischen letzteren (**s. Graph. 3.1.14**).

#### **3.1.5.1.3.1.2 Versuch 1993**

HEMA-OA und Indo-OA zeigten signifikant mehr RZ/mm als PLL-OA. Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen ersteren (**s. Graph. 3.1.15**).

#### **3.1.5.1.3.1.3 Versuch 1994**

HEMA-OA zeigte signifikant mehr RZ/mm als PLL-OA und Indo-OA, welche keinen signifikanten Unterschied aufwiesen (**s. Graph. 3.1.16**). Auffällig war das höhere Niveau der Riesenzellen der Versuche 1993 und 1994 gegenüber 1998.

#### **3.1.5.1.3.2 Subspezifizierung der Riesenzellen**

Es wurde die Anzahl Osteoklasten-ähnlicher Zellen (OCLC) und Fremdkörperriesenzell-ähnlicher Zellen (FKRZ) pro mm Implantatoberfläche in Kontakt mit Weichgewebe bestimmt. Hinsichtlich OCLC und FKRZ wurde bei HEMA-OA 28d ein Schnitt mehr ausgewertet. Die statistische Auswertung erfolgte mittels Unianova und JTT.

Bei den OCLC/mm zeigten HEMA-OA und Indo-OA eine signifikante Zunahme über die Zeit, bei PLL-OA nur ein Trend zur Zunahme. Diese war signifikant für alle Materialien im Vergleich 7/28d Liegezeit, keine weitere Zunahme zwischen 28d und 84d.

Zeitübergreifend zeigte Indo-OA signifikant mehr OCLC/mm als PLL-OA, HEMA-OA nahm eine Mittelstellung ohne signifikante Unterschiede gegen beide ein.

Bei PLL-OA und HEMA-OA nahmen die FKRZ/mm über die Zeit signifikant zu, bei Indo-OA zeigte sich nur ein Trend zur Zunahme. Diese Zunahme der FKRZ war materialübergreifend signifikant zwischen 28d und 84d, nur ein Trend bestand zwischen 7d und 28d. Es bestand diesbezüglich kein Materialunterschied, visuell zeigte Indo-OA weniger FKRZ/mm als PLL-OA und HEMA-OA.

Die Zunahme der RZ/mm über die Zeit wurde somit in seiner 1. Phase (7d auf 28d) von einer Zunahme hauptsächlich der OCLC getragen und in der 2. Phase (28d auf 84d) von den FKRZ. Je besser gewebeverträglich ein Material erschien, desto größer war der Quotient aus OCLC / FKRZ (s. **Tab. 3.1.6 u. 3.1.7** sowie **Graph. 3.1.17 u. 3.1.18**).

Im Versuch 1993 bestanden in der Unianova keine Materialunterschiede für FKRZ/mm und OCLC/mm.

### **3.1.5.1.3.3 Riesenzellen auf degradierten Oberflächen**

Es wurde der Anteil der Riesenzellen, sowie OCLC und FKRZ auf degradierter Oberfläche (RZDEG% / OCDegPDI / FKDegPDI) in Prozent aller Riesenzellen / OCLC / FKRZ auf degradierter und nicht degradierter Implantatoberfläche bestimmt. In der Anova ergab sich für alle Parameter ein Zeitunterschied, kein Unterschied zwischen den Subspezies. Im DT ergab sich bei RZDEG% eine materialübergreifende signifikante Zunahme von 7d ( $20,4 \pm 34,9$  %) auf 28d ( $55,5 \pm 38,4$  %), keine weitere von 28d auf 84d ( $53,5 \pm 36$  %) Liegezeit.

Bei den mengenmäßig häufigeren OCDegPDI kam es analog zu den RZDeg% zu einer materialübergreifenden Zunahme von 7d ( $16,8 \pm 35,4$  %) auf 28d ( $51,6 \pm 39,3$  %), keine weitere von 28d auf 84d ( $44 \pm 40,2$  %) Liegezeit.

Bei den FKDegPDI zeigte sich entsprechend ihrer mengenmäßigen Zunahme eine signifikante Zunahme von der Liegezeit 28d ( $18,3 \pm 37,4$  %) auf 84d ( $41,2 \pm 45,1$  %), keine von 7d ( $11,7 \pm 28,1$  %) auf 28d.

Insgesamt lagen ca. 50 % der RZ nach 84d auf degradierter Oberfläche, unabhängig ob OCLC oder FKRZ. Die OCLC erreichten dies aber bereits nach 28d (s. **Tab. 3.1.6 u. 3.1.7** sowie **Graph. 3.1.19 bis 3.1.21**).

## **3.1.5.2 Materialantwort**

### **3.1.5.2.1 Degradation des Implantats**

#### **3.1.5.2.1.1 Degradierete Implantatoberfläche**

Es wurde der Anteil der degradierten Implantatoberfläche in Prozent der beurteilbaren (nichtdegradierten und degradierten) Implantatoberfläche bestimmt. Es zeigte sich eine signifikante Zunahme der degradierten Implantatoberfläche über die Zeit im JTT bei PLL-OA und HEMA-OA, wobei diese im DT nur signifikant von 7d auf 28d ist, keine weitere

Zunahme von 28d auf 84d. Indo-OA zeigte keine signifikanten Veränderungen über die Zeit, bei visuell leichter Zunahme. Ein Materialunterschied bestand im KWT nur nach 84d Liegezeit, wobei im MWT PLL-OA signifikant mehr degradierte Oberfläche aufwies als HEMA-OA und Indo-OA, zwischen welchen kein Unterschied bestand (s. **Tab. 3.1.8 u. 3.1.9 sowie Graph. 3.1.22**).

Im Versuch 1993 zeigte sich ein ähnliches Bild auf deutlich höherem Niveau. Hier zeigte PLL-OA eine signifikant stärker degradierte Oberfläche als Indo-OA und trendhaft mehr als HEMA-OA, kein Unterschied zwischen letzteren (ANOVA/DT).

#### **3.1.5.2.1.2 Anteile der Gewebearten in Kontakt zu degradierter Oberfläche**

Es wurde analog der Gewebekontaktzonen am Interface der Anteil von Knochenkontakt (KnDegPD), Osteoidkontakt (OsDegPD) und Weichgewebekontakt (WgDegPD) an degradierter Oberfläche in Prozent der gesamten degradierten Oberfläche bestimmt, d.h. die Anteile der Kontakte der Gewebearten mit degradierter Oberfläche bestimmt (s. **Tab. 3.1.8 u. 3.1.9 sowie Graph. 3.1.23 bis 3.1.26**). Nach 7d Liegezeit zeigte sich im gepaarten T-Test (pTT) signifikant mehr degradierter Weichgewebekontakt als Knochen- oder Osteoidkontakt, zwischen welchen kein Unterschied bestand, entsprechend der Verteilung der Gewebe. Nach 28d zeigte sich zusätzlich trendhaft mehr degradierter Knochen- als Osteoidkontakt. Nach 84d besteht signifikant mehr WgDegPD als KnDegPD und signifikant mehr KnDegPD als OsDegPD. Materialübergreifend nahmen im JTT KnDegPD und OsDegPD über die Zeit signifikant zu, WgDegPD korrespondierend ab. Im MWT zeigte sich dies signifikant zwischen 7d und 28d, nicht jedoch von 28d auf 84d (s. **Graph. 3.1.23**).

Liegezeitübergreifend zeigte PLL-OA signifikant mehr WgDegPD (Median: PLL-OA 92,8%, HEMA-OA 73,7 %, Indo-OA 76,4 %), während HEMA-OA und Indo-OA signifikant mehr OsDegPD (Median: PLL-OA 1,8 %, HEMA-OA 7,1 %, Indo-OA 7,7 %) und KnDegPD (Median: PLL-OA 2,4 %, HEMA-OA 11,8 %, Indo-OA 14,1 %) aufwiesen (s. **Graph. 3.1.24 bis 3.1.26**).

#### **3.1.5.2.1.3 Degradierete Anteile der Gewebekontakte**

Andererseits wurde der Anteil von Knochen- (KnDegPDI), Osteoid- (OsDegPDI) und Weichgewebekontakt (WgDegPDI) zu degradierter Oberfläche in Prozent des jeweiligen gesamten beurteilbaren (degradierten und nicht degradierten) Gewebekontaktes, d.h. der

degradierte Anteil jedes Gewebekontaktes, in Prozent bestimmt (**s. Tab. 3.1.8 u. 3.1.9 sowie Graph. 3.1.27 bis 3.1.30**). Es zeigt sich nach 7d und 28d ein signifikant größerer Anteil degradierten Weichgewebekontaktes als Knochen- oder Osteoidkontaktes, kein Unterschied zwischen letzteren (pTT). Bei KnDegPDI und bei WgDegPDI kommt es von 7d auf 28d Liegezeit zu einer signifikanten Zunahme, bei OsDegPDI von 28d auf 84d (ANOVA). Somit bestehen nach 84d keine signifikanten Unterschiede mehr zwischen den Anteilen (pTT), die sich bei ca. 30% des jeweiligen gesamten Gewebekontaktes einpendeln. PLL-OA (Median: 34,6 %) zeigt zeitübergreifend signifikant mehr WgDegPDI als HEMA-OA (Median: 24%) und Indo-OA (Median: 21%). Für KnDegPDI und OsDegPDI bestehen keine Materialunterschiede (ANOVA).

### **3.1.5.2.2 Lakunenanzahl**

Es wurde die Anzahl der Lakunen pro mm beurteilbarer Implantatoberfläche (Lak/mm) sowie die Anzahl der Lakunen in Kontakt zu WG (LakWG/mm) und Knochen/Osteoid (LakKn/mm) pro Millimeter des jeweiligen beurteilbaren Gewebekontaktes bestimmt. Für diesen Messparameter waren 2 Schnitte PLL-OA nicht beurteilbar (**s. Tab. 3.1.10 u. 3.1.11 sowie Graph. 3.1.31 bis 3.1.33**).

Für alle 3 Parameter zeigte sich materialübergreifend eine signifikante Zunahme über die Zeit (JTT), wobei ein signifikanter Anstieg erst von 28d auf 84d Liegedauer zu verzeichnen war (DT). Bei LakWg/mm bestand von 7d auf 28d schon eine trendhafte Zunahme.

Nur bei LakKn/mm bestand ein signifikanter zeitübergreifender Materialunterschied (Unianova). Hier zeigte PLL-OA signifikant weniger Lakunen als Indo-OA und HEMA-OA, kein Unterschied bestand zwischen letzteren. Visuell bestand der Unterschied für alle Lakunenarten. Neben der Zunahme über die Zeit wurde qualitativ eine Zunahme bei höherem Anteil an Knochenkontakt beobachtet.

Im Versuch 1993 zeigte sich in der Anova ein trendhafter Materialunterschied ( $p = 0,079$ ). Bei weiterer Testung mit dem Duncan Test zeigte HEMA-OA ( $7,54 \pm 2,18/\text{mm}$  Median  $7,81/\text{mm}$ ) signifikant mehr Lakunen als Indo-OA ( $4,42 \pm 0,06/\text{mm}$  Median:  $4,42/\text{mm}$ ). PLL-OA ( $5,31 \pm 0,61/\text{mm}$  Median:  $5,49/\text{mm}$ ) weist keinen Unterschied zu den beiden anderen auf.

### **3.1.5.2.3 Lakunenlänge**

#### **3.1.5.2.3.1 Gesamte Lakunenlänge**

Es wurde die Lakunenlänge in Mikrometer pro Millimeter beurteilbarer Implantatoberfläche bestimmt (s. **Tab. 3.1.10 u. 3.1.11** sowie **Graph. 3.1.34**). Es zeigte sich materialübergreifend eine signifikante Zunahme der gesamten Lakunenlänge (in  $\mu\text{m}/\text{mm}$  Implantatoberfläche) über die Zeit (JTT), wobei es zu einer signifikanten Zunahme erst zwischen 28d ( $7 \pm 17 \mu\text{m}/\text{mm}$ ) und 84d ( $42 \pm 44 \mu\text{m}/\text{mm}$ ) Liegezeit kam (DT). Keine Signifikanz war zwischen 7d ( $1 \pm 3 \mu\text{m}/\text{mm}$ ) und 28d nachweisbar. Es bestand kein Materialunterschied (Unianova).

#### **3.1.5.2.3.2 Durchschnittliche Lakunenlänge**

Es wurde die durchschnittliche gesamte Lakunenlänge in Mikrometern bestimmt (s. **Tab. 3.1.10 u. 3.1.11** sowie **Graph. 3.1.35**). PLL-OA ( $32 \pm 15 \mu\text{m}$ ) zeigte zeitübergreifend signifikant längere Lakunen als Indo-OA ( $22 \pm 8 \mu\text{m}$ ). Die Lakunen in HEMA-OA ( $26 \pm 11 \mu\text{m}$ ) nahmen eine Mittelstellung ein und waren gegen die beiden anderen nicht signifikant (Unianova/DT). Es bestand kein Zeitunterschied (Unianova).

Die durchschnittliche Länge von Lakunen in Kontakt zu Knochengewebe ( $11 \pm 13 \mu\text{m}$ ) war signifikant kleiner als die in Kontakt zu Weichgewebe ( $25 \pm 13 \mu\text{m}$ ) (pTT) (s. **Graph. 3.1.36**).

Bei der durchschnittlichen Lakunenlänge in Kontakt mit Weichgewebe (DLakWg) zeigte PLL-OA ( $32 \pm 15 \mu\text{m}$ ) signifikant längere Lakunen als Indo-OA ( $20 \pm 10 \mu\text{m}$ ), die von HEMA-OA ( $28 \pm 13 \mu\text{m}$ ) waren trendhaft länger als von Indo-OA (Unianova/DT).

Umgekehrt war die durchschnittliche Lakunenlänge in Kontakt mit Knochen (DLakKn) bei PLL-OA ( $2 \pm 8 \mu\text{m}$ ) zeitübergreifend signifikant kleiner als bei Indo-OA ( $11 \pm 12 \mu\text{m}$ ) und HEMA-OA ( $18 \pm 14 \mu\text{m}$ ), die von HEMA-OA war trendhaft größer als von Indo-OA. Es zeigte sich materialübergreifend ein Trend zur Größenzunahme der DLakKn über die Zeit (7d:  $7 \pm 16 \mu\text{m}$ , 28d:  $7 \pm 10 \mu\text{m}$ , 84d:  $15 \pm 14 \mu\text{m}$ ) (Unianova). Siehe **Tab. 3.1.10 u. 3.1.11** sowie **Graph. 3.1.37 u. 3.1.38**).

### **3.1.5.2.4 Lakunenfläche**

#### **3.1.5.2.4.1 Gesamte Lakunenfläche**

Die Auswertung und Ergebnisse entsprachen weitgehend denen der Lakunenlänge (s. **Tab. 3.1.10 u. 3.1.11** sowie **Graph. 3.1.39**). Die gesamte Lakunenfläche in Quadratmikrometern pro Millimeter beurteilbarer Implantatoberfläche nahm signifikant über

die Zeit zu (JTT), wobei diese Zunahme signifikant zwischen 28d ( $21 \pm 38 \mu\text{m}^2/\text{mm}$ ) und 84d ( $182 \pm 246 \mu\text{m}^2/\text{mm}$ ) Liegezeit war (DT), kein Unterschied zwischen 7d ( $3 \pm 9 \mu\text{m}^2/\text{mm}$ ) und 28d. Es bestand kein Materialunterschied (Unianova).

#### **3.1.5.2.4.2 Durchschnittliche Lakunenfläche**

Bei der durchschnittlichen Lakunenfläche in Quadratmikrometern (s. **Tab. 3.1.10 u. 3.1.11** sowie **Graph. 3.1.40**) zeigte PLL-OA ( $158 \pm 22 \mu\text{m}$ ) zeitübergreifend signifikant größere Lakunen als HEMA-OA ( $88 \pm 23 \mu\text{m}$ ) und Indo-OA ( $73 \pm 17 \mu\text{m}$ ), kein Unterschied zwischen letzteren, kein Zeitunterschied (Unianova, DT).

Im Versuch 1993 war mittels Anova kein Materialunterschied zu detektieren (PLL-OA  $302 \pm 143 \mu\text{m}$  Median  $251 \mu\text{m}$ ; HEMA-OA  $269 \pm 105 \mu\text{m}$  Median  $295 \mu\text{m}$ ; Indo-OA  $315 \pm 262 \mu\text{m}$  Median  $315 \mu\text{m}$ ).

Die durchschnittliche Lakunenfläche in Kontakt zu Knochen (DLakFIKn) ( $3 \pm 21 \mu\text{m}^2$ ) war signifikant kleiner als bei Weichgewebekontakt (DLakFIWg) ( $98 \pm 87 \mu\text{m}^2$ ) (pTT) (s. **Graph. 3.1.41**).

Die durchschnittliche Größe der Weichgewebelakunen pro Millimeter Weichgewebekontakt (DLakFIWg  $\mu\text{m}^2/\text{mm}$  Weichgewebekontakt) war bei PLL-OA ( $159 \pm 132 \mu\text{m}^2$ ) zeitübergreifend signifikant größer als bei Indo-OA ( $60 \pm 41 \mu\text{m}^2$ ). HEMA-OA Lakunen ( $111 \pm 77 \mu\text{m}^2$ ) waren trendhaft kleiner als bei PLL-OA sowie trendhaft größer als bei Indo-OA (Unianova/DT). Bei der durchschnittlichen Größe der Knochenlakunen zeigten sich keine Unterschiede (Unianova) (s. **Tab. 3.1.10 u. 3.1.11** sowie **Graph. 3.1.42 u. 3.1.43**).

#### **3.1.5.2.5 Auslaugung**

Es wurde die Auslaugung der Implantatmaterialien in Prozent der Implantatdiameter bestimmt (s. **Tab. 3.1.8 u. 3.1.9** sowie **Graph. 3.1.44**). Hier konnten bei PLL-OA zwei Implantate und ein Schnitt zusätzlich wegen Aufarbeitungsartefakten und Fragmentierung nicht ausgewertet werden. Es zeigte sich bei allen 3 Materialien eine Zunahme über die Zeit (JTT), signifikant zwischen 7d und 28d Liegezeit bei PLL-OA und Indo-OA, bei HEMA-OA zeigte sich ein Trend. Zwischen 28d und 84d zeigte sich eine signifikante Zunahme nur bei HEMA-OA und Indo-OA. Dies lag z.T. an der großen Standardabweichung bei PLL-OA 84d durch die nur dort beobachtete teils erhebliche Fragmentierung. Ein Materialunterschied verfehlte in der Unianova mit  $p = 0,054$  nur knapp die Signifikanz. Mit dem Duncan Test

ergab sich liegezeitübergreifend eine stärkere Auslaugung bei Indo-OA ( $2,7 \pm 4$  %) als bei PLL-OA ( $1,1 \pm 1,8$  %). HEMA-OA ( $1,9 \pm 1,9$  %) wies keinen Unterschied zu den beiden auf. Im Versuch 1993 ließ sich in der Anova kein signifikanter Materialunterschied (PLL-OA  $34,2 \pm 22,9$  % Median 23,4 %; HEMA-OA  $16,3 \pm 7,1$  % Median 15,8 %; Indo-OA  $12,9 \pm 9,5$  % Median 12,9 %) detektieren.

### **3.1.5.2.6 Betrachtung der Verfahrenstechnik**

#### **3.1.5.2.6.1 Blasenbildung**

Bei gehäufter Blasenbildung 1998 gegenüber den Versuchen 1993 und 1994 wurde nach beeinflussenden Parametern gesucht. Die Blasen traten v.a. an zellreichen Grenzonen zu Knochen und in Markhöhlen der Kortikalis sowie an Osteozyten auf. Sie zeigten sich gehäuft an Orten größerer Knochenneubildung, wie z.B. der Epiphysenfuge. Ein leichter Gradient war von ventral nach dorsal zu beobachten unabhängig davon, ob die Kondylen zur besseren Verteilung des Einbettungsmaterials abgesägt waren oder nicht. Es bestand kein Zusammenhang zur Paraformaldehydperfusion der Tiere, trotz gelegentlichen Auftretens von Blasen in Gefäßen. Es zeigte sich eine leichte Abnahme über die Zeit, bis auf 84 Tage PLL-OA, welches erhebliche Blasenbildung zeigte, hier jedoch relativ unabhängig von der gesehenen entzündlichen Reaktion. Da es teilweise auch erhebliche Unterschiede innerhalb eines Versuches gab, sind kleine nicht erkannte Änderungen des Einbettungsverfahrens dafür als ursächlich anzusehen.

#### **3.1.5.2.6.2 Knochenbindung über die Schnittfolge**

Es wurde der Anteil von Knochenkontakt in Prozent am Interface über die aufsteigende Schnittfolge bestimmt (s. **Tab. 3.1.12 u. Graph. 3.1.45**). Es ergab sich eine signifikante Zunahme des Knochenanteils mit zunehmender Schnittnummer, d.h. mit zunehmend dorsaler Lage des Schnittes (JTT). Dies stimmte mit den qualitativen Beobachtungen überein.

## **3.2 Elektronenmikroskopie**

### **3.2.1 Vor Implantation**

Vor Implantation waren die Oberflächen der Implantate bis auf artifizielle Längsriefen glatt und wiesen keine morphologischen Unterschiede auf. Nur ganz vereinzelt bestand leichte Rissbildung möglicherweise durch Aufarbeitungsartefakte.

### **3.2.2 Liegezeit 7 Tage**

#### **3.2.2.1 Materialantwort**

Die Implantatoberflächen der 3 Materialien waren noch weitgehend unverändert. Die meisten Veränderungen fanden sich bei PLL-OA. Indo-OA und PLL-OA wiesen im Gegensatz zu HEMA-OA leichte Rißbildung auf, was auf einer größeren Instabilität oder auf Aufarbeitungsartefakten beruhen könnte (**s. Abb. 3.2.1, S. 113 ff.**). Alle Implantate wiesen teils geflechtartige zellreiche Auflagerungen (postoperatives Exsudat / Hämatom) auf. Dieses war bei PLL-OA deutlich zellreicher. Es fanden sich noch keine Lakunen.

#### **3.2.2.2 Gewebeanwort**

Es zeigten sich die bei der Lichtmikroskopie bereits beschriebenen Reaktionen. Nur bei Indo-OA fand sich knöcherner Kontakt mit Osteoblastenbesatz und Knochenneubildung am Interface (**s. Abb. 3.2.2**).

### **3.2.3 Liegezeit 28 Tage**

#### **3.2.3.1 Materialantwort**

PLL-OA wies einige Oberflächendefekte, v.a. horizontal zur Längsachse verlaufende Rissbildung auf (**s. Abb. 3.2.1**). Nur vereinzelt fanden sich meist kleine Lakunen als Zeichen zellulärer Degradation (**s. Abb. 3.2.3**). HEMA-OA zeigte weiterhin eine kaum veränderte Oberfläche mit vereinzelt kleinen Abbruch und kleinen Arealen der Apposition knöcherner Matrix direkt auf der Implantatoberfläche. Wenige Lakunen, mehrere Mikrometer tief und mehrere 10 µm lang, ließen sich auf der Implantatoberfläche nachweisen, teils mit Riesenzellen. In höherer Vergrößerung war unter Riesenzellen liegendes Implantat teils lockerer und transparenter. Alle Implantate zeigten eine zunehmende Mikroporosität durch Herauslösung oberflächlicher HA-Körnchen. Andererseits nahm der Körnchendurchmesser

durch Auslaugung ab und dadurch die Porengröße zu (**s. Abb. 3.2.4**). Es wurde ein Dichteabfall von zentral zur Peripherie gefunden. Es fanden sich keine in Vorversuchen mit Nano-/Organoapatiten gesehenen globulären Strukturen in der Implantatumgebung. Indo-OA zeigte ein ähnliches Bild mit relativ unveränderter Oberfläche, mit wenigen Abbrüchen und kleinen Lakunen, v.a. an Stellen mit oberflächlicher Rissbildung im Implantat. Es zeigte sich mehr Knochenapposition.

Der Versuch 1993 zeigte ein ähnliches Ergebnis, unterschied sich aber durch eine erheblich stärkere Degradation der Implantatoberflächen. PLL-OA zeigte dies am stärksten, mit einer durch Risse und Spalten zerklüfteten, teils schuppig rauhen Oberfläche und vielen Auflagerungen. Auch HEMA-OA zeigte eine relativ stark veränderte Oberfläche mit vielen kleinen Lakunen, aber weniger Auflagerungen. Indo-OA hatte die am wenigsten veränderte Oberfläche (immer noch deutlich stärker als 1998 verändert) mit nur geringen Auflagerungen, aber vielen Lakunen in teils straßenartiger Anlage, an denen OCLC das Implantat regelrecht „abgeweidet“ zu haben schienen. Vom Aspekt 1993 leicht kleinere Kristallgröße als 1998 (**s. Abb. 3.2.4 bis 3.2.6**). Der Versuch 1994 zeigte ein ähnliches Ergebnis wie Versuch 1993.

### **3.2.3.2 Gewebeantwort**

Im Interface von PLL-OA zeigte sich ein deutliches zellreiches Fasergeflecht mit vielen kleinen Rundzellen, Erythrozyten und teils Riesenzellen. Kein Knochenkontakt, kein Implantatabbruch oder Implantatsplitter im Gewebe. HEMA-OA zeigte eine deutlich geringere zelluläre Reaktion, teils Fasergewebe, teils Knochentrabekel, welche bis ans Implantat reichten, kein Implantatabbruch. Allgemein inserierten die Kollagenfasern an den Arealen der Apposition knöcherner Matrix auf der Implantatoberfläche sowohl über die vorbeschriebene amorphe 0,4 µm breite Kittlinie als auch direkt. Es zeigten sich dann Interdigitationen der Kollagenfasern mit HA-Körnchen der Implantatoberfläche. Es bestand somit eine Bindung von Knochenmatrix mit dem Hydroxylapatit des Implantats. Die Orientierung der Kollagenfasern und der langen Achse Implantat-naher Osteozyten war parallel oder schräg zur Implantatoberfläche. Die Canaliculi der Osteozyten reichten bis ans Implantat. Auf den Trabekeln und angrenzender Implantatoberfläche fanden sich produzierende Zellen und in Bildung befindliche Kollagenfasern sowie deren Ossifikation (**s. Abb. 3.2.7**). Es fanden sich Makrophagen und Riesenzellen, die sowohl Charakteristika von Osteoklasten mit typischer Haftzone („sealing zone“), gerichtetem Zelleib und

Resorptionslakunen („resorbing pits“) als auch von Fremdkörperriesenzellen aufwiesen. Deren Zellfortsätze reichten in oberflächliche Spalten und Risse und konnten die Implantatmatrix sowohl extrazellulär auflösen als auch kleine Implantatpartikel phagozytieren (s. **Abb. 3.2.8**). Als morphologische Korrelate ließen sich Kristalle und Partikelchen intrazellulär in Resorptionsvakuolen nachweisen. Indo-OA zeigte bei höherem Knochenanteil eine ähnliche Reaktion wie HEMA-OA. Der Versuch 1993 zeigte ein ähnliches Bild, der Versuch 1994 die vorbeschriebene deutliche faserige Reaktion.

### **3.2.4 Liegezeit 84 Tage**

#### **3.2.4.1 Materialantwort**

PLL-OA zeigte eine deutliche Bruch- und Spaltenbildung bei relativ wenig veränderter Oberfläche, wenige Lakunen und kaum Knochenkontakt (s. **Abb. 3.2.9**). Bei HEMA-OA war die Oberfläche stärker verändert mit vielen Lakunen unterschiedlicher Größe, teilweise größerem Abbruch und Zonen, an denen das Implantat schollig zerfiel (s. **Abb. 3.2.10 bis 3.2.13**). Auf solchem Abbruch fanden sich v.a. bei PLL-OA und HEMA-OA viele Fremdkörperriesenzell-ähnliche Zellen. Es fanden sich häufiger Knochenreste auf der Oberfläche, v.a. in Lakunen, welche nach dem Aufbrechen des Interfaces dort haften geblieben waren (s. **Abb. 3.2.14 u. 3.2.15**). Indo-OA zeigte ein ähnliches Bild, jedoch eine deutlich geringer veränderte Oberfläche, weniger Knochenkontakt und meist kleinen muschel- / kegelförmigen Implantatabbruch.

#### **3.2.4.2 Gewebeanwort**

Die Gewebereaktion hatte sich bei weiterbestehendem oben beschriebenen Gefälle aneinander angeglichen. Auffällig war gegenüber den anderen Liegezeiten, dass wie lichtmikroskopisch beschrieben beim Aufbrechen des Interfaces Implantatmaterial, oft muschelartiger Form, am Knochen hängen blieb, was entweder eine gute Implantatbindung oder ein brüchig gewordenes Implantat anzeigte (s. **Abb. 3.2.16**).

### **3.2.5 Rückstreu-Elektronen-Modus**

Mit diesem Verfahren können Dichteunterschiede bestimmt werden. Durch Spaltbildung im Interface infolge von Schrumpfungartefakten war die Dichte an der Implantatoberfläche nicht bestimmbar.

### **3.3 In-situ-Hybridisierung (ISH)**

Positive Signalantworten konnten nur mit  $\alpha 1(I)$ -Prokollagen-Sonden gefunden werden, weshalb sich darauf beschränkt werden soll. Spezifische rote Signale waren nur mit antisense-Sonden, nicht mit sense-Sonden zu detektieren.  $\alpha 1(I)$ -Prokollagen-positive Osteoblasten wurden außerhalb des Interfaces in periostalen Osteoblasten, in der Mineralisationszone von Epiphysenfugen und in Remodelling-Zonen des Knochens nachgewiesen. Bei sehr guten Signalantworten mit Digoxigenin markierten Sonden wurde sich darauf beschränkt und auf weitere radioaktive ISH verzichtet. Es zeigten sich interindividuell unterschiedliche Färbeergebnisse, welche aufarbeitungsbedingt waren. Die Hintergrundfärbung war gering und immer gut unterscheidbar. Es folgt eine Beschreibung der ISH-typischen Ergebnisse, die übrigen entsprechen denen der Lichtmikroskopie.

#### **3.3.1 Liegezeit 7 Tage**

##### **3.3.1.1 Gewebeantwort Implantat**

Bei PLL-OA zeigten sich wenig Osteoblasten mit positivem Signal um Trabekel und Knochendebris, dort v.a., wenn noch vitale Zellen vorhanden waren. Von ventral nach dorsal nahm die Zahl positiver Osteoblasten und die Anzahl neugeformter Bälkchen zu. Das Interface wirkte aufgeräumter. Es zeigten sich aber keine positiven Osteoblasten direkt am Interface oder im Bereich starker entzündlicher Aktivität, hingegen in der von der Entzündung und Implantat abgewandten Seite (**s. Abb. 3.3.1, s. S. 121 ff.**).

Bei HEMA-OA zeigte sich deutlich weniger entzündliche Aktivität und deutlich mehr Knochenbildung als bei PLL-OA, einmal bis ans Implantat heran, sonst meist von wenigstens einer Schicht negativer Zellen getrennt (**s. Abb. 3.3.2**).

Bei Indo-OA zeigten sich mehr positive Osteoblasten als bei HEMA-OA in mehreren Schnitten und Implantaten bis ans Implantat heran. Es bestand direkter Knochenkontakt und Neubildung entlang der Implantatoberfläche (**s. Abb. 3.3.3**). Die neugeformten Tabekel waren gesäumt von positiven Zellen. Die frisch eingemauerten Osteozyten zeigten ebenfalls noch ein positives Signal. Auch hier waren die positiven Osteoblasten teils durch eine negative Zellschicht vom Implantat getrennt. Die Knochenbildung war teils fokussiert aus unklarer Ursache (einmal Epiphysenfuge angeschnitten). Im dorsalen Anteil sah man

insgesamt deutlich mehr gebildete Knochenmasse und einen schon deutlich erkennbaren Knochenring aus neuen Bälkchen. Es zeigte sich die geringste entzündliche Reaktion.

### **3.3.1.2 Gewebeantwort Leerlochkontrolle**

Es fanden sich nur wenige Reste von Sägemehl und devitalisierten Trabekeln, die wahrscheinlich durch eingeschränkte / unterbrochene Blutversorgung bei Bohrlochanlage entstanden waren. Von den Rändern bildete sich Organisationsgewebe. Neugebildeter Knochen wuchs v.a. dorsal teils baumartig in das bohrlochfüllende Hämatom und viele positive Osteoblasten säumten diese Trabekel. An deren zentripetalem Ende lagen positive Osteoblasten verstreut im Hämatom und produzierten kolonisiert neue Knochenmatrix. Am ans Bohrloch grenzenden Knochen zeigten sich stark positive Zellkolonien, die dort weiteren Knochen bildeten. Die schon eingemauerten Osteozyten zeigten dabei auch noch ein positives Signal, somit neugebildete Bälkchen anzeigend (s. **Abb. 3.3.4**). Spindelförmige Zellen in Nähe der ins Hämatom wachsenden Trabekelchen zeigten ebenfalls ein schwach positives Signal. Hier war keine direkte Unterscheidung zwischen osteoblastären Vorläuferzellen und Fibroblasten möglich. Sie wurden bereits vorbeschrieben [136].

Bei PLL-OA zeigte sich im Vergleich zur Leerlochkontrolle eine stärkere Entzündungsreaktion und geringere Knochenbildung. HEMA-OA und Indo-OA wiesen eine vergleichbare Knochenbildungsaktivität zur Leerlochkontrolle auf.

### **3.3.2 Liegezeit 28 Tage**

#### **3.3.2.1 Gewebeantwort Implantat**

Bei PLL-OA fanden sich mehr positive Osteoblasten auf dem umgebenden Knochen als nach 7d. Dieser wuchs mehr ringförmig um das Implantat mit Apposition von Knochen teils direkt auf die beschriebene bindegewebige Umscheidung. Hier zeigten dann vereinzelt auch Fibroblasten schwach positive Signale. Wenige positive Osteoblasten am Implantat waren oft durch eine Schicht negativer Zellen von der Implantatoberfläche getrennt. Die Ausbildung des vorbeschriebenen Knochenringes war weit vorangeschritten. Das entzündliche Infiltrat hatte abgenommen. Um Entzündungszellnester und um Implantatsplitter im Gewebe fanden sich keine positiven Osteoblasten (s. **Abb. 3.3.5**).

Bei HEMA-OA zeigten sich mehr Osteoblasten mit positivem Signal auf umgebendem und ans Implantat grenzenden neugebildeten Knochen als nach 7d und mehr als bei PLL-OA. Wie

schon bei Indo-OA 7d fand sich fokal sehr unterschiedliche Aktivität v.a. zum Schluss des Knochenringes, mal um OCLC, mal ohne ersichtlichen Grund. Positive Osteoblasten zeigten sich bis ans Implantat und am Implantat entlang, aber mit zunehmendem Knochen/Implantatkontakt in abnehmender Zahl. Bei Vorhandensein faserigen Weichgewebes im Interface fand sich Knochenbildung dort hinein. Es fanden sich dann gelegentlich schwach positive Fibroblasten (s. **Abb. 3.3.6**). Der Knochenring war fast fertig ausgebildet, wurde mit abnehmender Aktivität weiter ausgebaut. Dieser fand sich v.a. ventral, dorsal zeigte sich das Implantat in trabekuläres Geflechtwerk integriert. Es zeigten sich relativ viele eingebaute Knochenfragmente.

Bei Indo-OA nahm die Zahl der Osteoblasten mit positivem Signal von ventral nach dorsal und mit zunehmender Knochenmasse im Interfacebereich ab. Sie lagen v.a. auf neugeformten, aufs Implantat zuwachsenden Trabekelchen. Das Implantat wurde mehr trabekulär integriert als ringförmig umwachsen. Die Anzahl positiver Osteoblasten war größer als nach 7d und als bei HEMA-OA (s. **Abb. 3.3.7**).

### **3.3.2.2 Gewebeantwort Leerlochkontrolle**

Es zeigten sich insgesamt weniger positive Osteoblasten als nach 7d um das Bohrloch herum. Eingeschlossene Osteozyten waren nun meist negativ. Es zeigte sich angedeutet die Ausbildung eines Knochenringes. Es wurde keine Fibrose des Bohrloches gesehen. Die Knochenbildungsaktivität der Leerlochkontrolle entsprach der bei PLL-OA, war aber geringer als bei HEMA-OA und Indo-OA.

### **3.3.3 Liegezeit 84 Tage**

#### **3.3.3.1 Gewebeantwort Implantat**

Bei PLL-OA war die Knochenbildungsaktivität gegenüber 28d rückläufig. Es zeigten sich nur noch wenige positive Osteoblasten vom fast komplett ausgebildeten Knochenring auf die Faserkapsel des Implantats zuwachsend und zum weiteren Ausbau des Ringes. An umgebenden Trabekeln und in Spalten zwischen Implantatfragmenten fanden sich nur gering aktive Zellen (s. **Abb. 3.3.8**).

Bei HEMA-OA zeigte sich eine stärkere Knochenbildung als bei PLL-OA, aber etwas weniger als nach 28d. Positive Osteoblasten säumten ringförmig um das Implantat wachsende Trabekel. Wenige wuchsen direkt auf das Implantat zu, bei aber ohnehin schon viel

existierendem Knochenkontakt. Je weniger Knochenkontakt bestand, desto mehr Knochenbildungsaktivität fand sich. Die Knochenapposition wurde, wenn kein direkter Implantat/Knochenkontakt bestand, auch auf die teils beobachtete faserige Umscheidung beobachtet. Positive Osteoblasten fanden sich auch an Implantatsplittern, dagegen wenig Aktivität außerhalb des Interfaces (**s. Abb. 3.3.9**). Die Knochenbildung war ventral leicht stärker als dorsal. Es fand sich auch hier die vorbeschriebene schwarze körnige Substanz.

Bei Indo-OA zeigten sich mehr Osteoblasten mit positivem Signal auf umgebenden Knochen als bei HEMA-OA und nur gering weniger Knochenbildung als nach 28d, von ventral nach dorsal leicht abnehmend. Die von positiven Osteoblasten umsäumten Trabekel waren mehr zentripetal auf das Implantat zugerichtet. Bei Bewegungsartefakten (Pseudoganglien) und um Implantatsplitter zeigten sich deutlich vermehrt positive Osteoblasten. Die gesteigerte Knochenbildung zeigte sich nur am Interface und dessen näherer Umgebung. Nachweis der inhomogen verteilten schwarzen körnigen Substanz (**s. Abb. 3.3.10**).

### **3.3.3.2 Gewebeantwort Leerlochkontrolle**

Es zeigte sich insgesamt eine geringere Knochenbildung als nach 28d. Am dorsalen und vereinzelt auch ventralen Ende des Bohrloches wuchsen Trabekeln ein. In der Mitte wurde keine knöcherne Durchbauung gesehen. Die Knochenbildungsaktivität der Leerlochkontrolle entsprach der bei PLL-OA und war wiederum geringer als bei HEMA-OA und Indo-OA.