

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1 Lichtmikroskopie**

Zur besseren Übersicht sei vor der detaillierten Beschreibung auf Tabelle 3.1.1 hingewiesen, die einen groben Vergleich der Materialien über die Zeit und untereinander ermöglicht.

##### **3.1.1 Vor Implantation:**

Die Partikel weisen glatte Ränder auf und sind optisch homogen. Risse oder Spalten sind nicht beobachtbar. Morphologische Unterschiede der Materialien untereinander sind nicht ersichtlich.

##### **3.1.2 7 Tage:**

*Bioglass® 45s5 (Abbildung 3.1.1), 52s und 55s:*

Das Implantatbett ist gleichmäßig mit Granulat gefüllt. Zwischen den Partikeln finden sich Gewebsfragmente im Hämatom und Exsudat in einem faserarmen, lockeren Verbund. Die Fasern entsprechen dabei in ihrem Erscheinungsbild Fibrinfasern. Vereinzelt sind Rundzellen anzutreffen. Erstes Organisationsgewebe mit Kapillaren findet sich an den Rändern des Implantatbettes, von wo aus es zentripetal einwächst. Im Partikelkonglomerat selber läßt sich keine Knochenbildung beobachten. Jedoch finden sich entlang den Rändern des ehemaligen Bohrloches Ansammlungen von Knochenmehl, umgeben von dichtem, blastenreichem Stroma, in welchem sich an einigen Stellen bereits junger, ungerichteter Knochen gebildet hat. In vereinzelt Fällen ist Knochenbildung an Partikeloberflächen zu beobachten; diese Partikel finden sich dann am Rand des Implantatgebietes. Mehrkernige Riesenzellen oder Rundzellinfiltrate lassen sich nicht nachweisen. Knochen trabekel in Nachbarschaft zum Implantatgebiet sind überzogen von osteoidbildenden Osteoblasten, deren Produktion an neuer Knochenmatrix allerdings noch gering ist.

Die Partikel weisen nach von Kossa/Paragonfärbung einen feinen schwarzen Saum auf (Silbernitrat). Partikel am Rande des Implantatgebietes sind stärker angefärbt; hier schließt sich dem schwarzen Saum eine blau-violett gefärbte Zone an (Toluidin-Farbstoff), und eine weiter zentral liegende, feine blaue Linie unterteilt den ansonsten ungefärbten Kern noch

einmal in einen Außen- und Innenbereich. Diese zuletzt beschriebene Linie diene als Definition der Kernzone eines jeden Partikels. Das hier beschriebene Färbeverhalten der Partikel soll im Folgenden als typisches Färbeverhalten bezeichnet werden. Spalten in den Partikeln sind nicht zu finden. Fortgeschrittene Degradationsmuster wie eine zentrale Taschenbildung, sogenannte Pouches (Abb. 3.1.7), die als solche zuerst von Ducheyne und Schepers [3] beschrieben worden sind, sind ebenfalls nicht zu finden.

### **3.1.3 28 Tage:**

#### *Bioglass® 45s5:*

Das Implantationsgebiet ist gleichmäßig mit Partikeln gefüllt. Interpartikuläre Areale erscheinen vergrößert im Vergleich zu der 7-Tage-Gruppe und sind im Zentrum gefüllt mit Organisations- und Narbengewebe. Je mehr man in seitliche und dorsale Anteile des Implantatgebietes kommt, um so mehr weicht das Organisations- und Narbengewebe Knochen. Die Knochenbildung erfolgt bevorzugt als Bedeckung oder Anbindung an Partikeloberflächen (Abbildung 3.1.2), wenngleich sie auch ohne sichtbare Anbindung vorkommt. In der Peripherie des Implantatbettes finden sich knöchern vollständig umschlossene Partikel, untereinander durch Knochen trabekel verbunden. Dazwischen findet sich lockeres Bindegewebe. In Nachbarschaft zum Implantatgebiet finden sich von Osteoblasten überzogene Trabekel mit neugebildetem Knochen. Zonen der Knochenresorption sind nachweisbar. Ausgereifter lamellärer Knochen weist weniger Osteozyten auf als neu gebildeter Faserknochen im Implantatgebiet (Abbildungen 3.1.3 und 3.1.4). In einigen Schnitten sind Rundzellularinfiltrate (Abbildung 3.1.5) sichtbar. Topographisch befinden sich diese Rundzellularinfiltrate am Rand des Implantatgebietes, gewöhnlich an der dorsalen Begrenzung. Mehrkernige Riesenzellen sind zahlreich im gesamten Implantatgebiet vorhanden, soweit beobachtbar in direktem Kontakt zur Partikeloberfläche (Abbildung 3.1.6). In Arealen mit hohem Knochenanteil sind sie selten anzutreffen. Dort, wo mehrkernige Riesenzellen das Bild beherrschen, ist das Färbeverhalten des Gewebes und der Partikel verändert. Es zeigt sich eine metachrome Färbung mit basischem Fuchsin, Toluidin-blau hingegen färbt in diesen Arealen nicht. Dieses Färbeverhalten von Gewebe und Partikeln wird im folgenden als atypisches Färbeverhalten bezeichnet. Die Grundlagen für die Affinität der Farbstoffe für bestimmte zelluläre Strukturen

ist im einzelnen nicht bekannt. Wichtig ist es jedoch festzuhalten, dass dieser Unterschied im Färbeverhalten korreliert mit Arealen hoher Dichte an Fremdkörperriesenzellen. Die weitere Bedeutung dieses Phänomens wird in der anschließenden Diskussion noch behandelt.

Die Partikel weisen in der Mehrzahl ein typisches Färbeverhalten auf. In Fällen einer Taschenbildung (Abbildung 3.1.7) färbt sich das Glas zur Begrenzung der Tasche hin oftmals atypisch. Es finden sich jedoch auch Partikel welche nicht diesem Schema folgen und überhaupt keinen Farbstoff annehmen. Fast alle Partikel weisen Spalten auf, in denen häufig Gewebe zu finden ist. Manche Partikel weisen Taschen auf; es läßt sich erahnen, dass bei weiterer Degradation dieser Formationen aus einem ehemaligen Partikel mehrere kleinere Bruchstücke hervorgehen werden.

*Bioglass® 52s:*

Das Implantatgebiet ist gleichmäßig mit Granulat gefüllt. Ein Unterschied in der Größe des Binnenraums zur 7-Tage-Gruppe läßt sich im Gegensatz zu 45s5 nicht feststellen. Im ventralen Implantatgebiet findet sich Organisations- und Narbengewebe, das nach außen hin zunehmend durch Knochen ersetzt wird. Die Menge an neu gebildetem Knochen im Implantatgebiet unterscheidet sich nicht wesentlich von der bei Bioglass® 45s5 beobachteten. Distale Anteile zeigen vollständig knöchern umschlossene Partikel. Der Binnenraum ist fast vollständig mit Knochen aufgefüllt und der bindegewebige Anteil gering. Bei 45s5 sind die Partikel in distalen Arealen eher lockerer durch knöchernes Trabekelwerk miteinander verbunden und der bindegewebige Gewebsanteil erscheint höher. Die Partikel bei 45s5 erscheinen in distalen Arealen jedoch auch kleiner im Vergleich zu 52s. Remodeling in Implantatbettumgebung ist zu beobachten. Rundzellinfiltrate können in drei Fällen beobachtet werden. Sie sind an den äußeren Grenzen des Implantatgebietes lokalisiert. Mehrkernige Riesenzellen werden in einigen Schnitten gehäuft angetroffen. Wie bei 45s5 ist auch hier das Auftreten von mehrkernigen Riesenzellen in Arealen mit hohem Knochenanteil selten.

Das Färbeverhalten der Partikel ähnelt dem bei 45s5 beschriebenen. Jedoch ist die Auslaugung der Partikel nicht so weit fortgeschritten wie bei 45s5. Im Gegensatz zu 45s5 sind Spalten seltener anzutreffen und Taschen wurden nur äußerst selten beobachtet.

*Bioglass® 55s:*

Das Implantatgebiet ist gleichmäßig mit Partikeln gefüllt, ein Unterschied in der Größe des Binnenraums zur 7-Tage-Gruppe läßt sich wie auch bei Bioglass® 52s nicht feststellen. Von ventral ausgehend findet sich interpartikulär Organisations- und Narbengewebe, das nach außen hin zunehmend durch Knochen ersetzt wird. Das Maß an knöcherner Durchbauung schwankt dabei erheblich zwischen den einzelnen Präparaten. Die Osteogenese scheint bei diesem Material ihren Anfang eher zwischen den Partikeln zu suchen (Abbildung 3.1.8). Dies steht im Gegensatz zu den Verhältnissen, die bei Bioglass® 45s5 beschrieben wurden. Dort scheint die Knochenapposition bevorzugt an der Partikeloberfläche zu beginnen. Bioglass® 52s scheint diesbezüglich eine Mittelstellung einzunehmen. Im Gegensatz zu den beiden anderen Glaskompositionen finden sich Partikel, wo ein schmaler Saum Bindegewebe zwischen das originäre Knocheninterface gewachsen ist (Abbildung 3.1.9): Es scheint, als habe sekundär eine Auflösung des zuvor intakten Knocheninterfaces stattgefunden. Ein Rundzellinfiltrat konnte an der dorsalen Grenze eines Implantatbettes beobachtet werden. Ferner wurden mehrkernige Riesenzellen beobachtet mit einem Verteilungsmuster wie bei den anderen Materialien. Auch Remodeling des Knochens in an das Implantatgebiet angrenzenden Zonen ist erkennbar und ähnlich dem Bild bei den anderen Materialien.

Die Partikel weisen einen feinen, schwarzen Saum auf. Bei einigen Partikeln schließt sich daran noch eine toluidin-blaue Schicht an. Das Färbeverhalten der Partikel ist nicht so ausgeprägt wie bei den anderen Materialien, was auf eine geringere Auslaugung schließen läßt. Die Anfärbung ist jedoch auch hier unzuverlässig, das heißt manchmal folgen sie dem typischen Färbeverhalten, manchmal färben sie sich überhaupt nicht an. Spalten sind nur in Ausnahmefällen zu sehen und Taschen lassen sich nicht nachweisen. Das Degradationsverhalten ist also ähnlich wie das von Bioglass® 52s. Die Partikel aus 52s und 55s unterscheiden sich hierin von Bioglass® 45s5, welches stärkere Degradationsphänomene aufweist.

### 3.1.4 84 Tage:

#### *Bioglass® 45s5:*

In dieser Gruppe weist das Implantatlager zwei unterschiedliche Reaktionszonen auf. Einerseits, überwiegend in ventralen Abschnitten in direktem Anschluss an den Knochendeckel, findet sich ein scheinbar abgekapseltes Partikelkonglomerat (Abbildung 3.1.10). Ein sehr zellreiches, blastenartiges Stroma füllt den Interpartikularraum; die Partikel sind überzogen mit mehrkernigen Riesenzellen. Die Partikel in dieser Zone färben sich untypisch und nur selten an und zeigen geringe Zeichen einer Degradation. Nur in seltenen Fällen sind Spalten sichtbar. Partikel, die sich typisch anfärben, liegen meist am Rand dieses abgekapselten Konglomerats; hier sind weitere Zeichen der Degradation bis hin zu Taschenbildungen beobachtbar.

Andererseits findet man außerhalb der Kapsel vollständig regenerierten Knochen und hämatopoetisches Gewebe. Die Partikel wirken kleiner als zur Liegezeit 28 Tage (d) und sind locker angeordnet. Mehrkernige Riesenzellen lassen sich nur selten finden. Die Partikel färben sich unzuverlässig an. Sie erscheinen kleiner und sind vollständig in einen knöchernen Verbund eingefasst, ehemalige Spalten oder Pouches sind aufgefüllt mit Knochen (Abbildung 3.1.11). Auch lassen sich hier, wie auch in an das Implantatgebiet angrenzenden Arealen, Zonen knöchernen Umbaus finden.

#### *Bioglass® 52s:*

Auch hier zeigt das Implantatlager zwei verschiedene Reaktionszonen. In ventralen Abschnitten finden sich blastenreiches Stroma und mit mehrkernigen Riesenzellen besetzte Partikel. Die Ausdehnung dieser Zone ist sehr variabel und erstreckt sich in zwei Fällen fast über das gesamte ehemalige Bohrloch. In diesen beiden Fällen ist die sonst zum Teil auffällige Abkapselung gegenüber der Umgebung nicht erkennbar. Das Färbe- und Degradationsverhalten der Partikel ist ähnlich wie bei *Bioglass® 45s5*.

In den dorsalen Abschnitten des Implantatbettes beobachtet man wie bei *Bioglass® 45s5* vollständig knöchern umschlossene Partikel, welche durch knöchernes Trabekelwerk miteinander verbunden sind. In einem Fall ist das gesamte Implantatbett knöchern durchbaut. Mehrkernige

Riesenzellen an Partikeloberflächen sind vereinzelt beobachtbar. Das Färbeverhalten der Partikel ist wie bei 45s5 unzuverlässig. Pouchformationen sind häufiger als bei 45s5 vorhanden. Die Partikel wirken zudem größer als bei Bioglass® 45s5. Knöchernes Remodeling in an das Implantatgebiet angrenzenden Bereichen ist zu beobachten.

*Bioglass® 55s:*

Das Implantatgebiet ist gleichmäßig mit Partikeln gefüllt. Wie auch schon bei Bioglass® 45s5 und 52s läßt sich eine zweigeteilte Reaktion entlang des Implantatbettes beobachten. Meist ventral findet sich interpartikulär lockeres Bindegewebe, teils blastenreich; darin gehäuft lassen sich mehrkernige Riesenzellen beobachten, die an Partikeloberflächen haften. Diese Areale finden sich im Gegensatz zu den anderen Materialien vereinzelt auch als Einsprengsel mitten im Implantatgebiet und auch am dorsalen Rand des Implantatgebietes. Das atypische Färbeverhalten in diesen Bereichen, die von mehrkernigen Riesenzellen dominiert werden, wurde schon bei Bioglass® 45s5 bei 28 d beschrieben. Die Partikel weisen im Gegensatz zu den anderen Materialien vermehrt Degradationsmuster bis hin zu Pouchformationen auf. Die Zweiteilung in einen mit Knochen durchwachsenen Bereich einerseits und in einen mit Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen besetzten andererseits erscheint nicht so streng getrennt wie bei den anderen Materialien; vielmehr scheinen die Bereiche einander zu überlappen bzw. ineinander überzugehen.

In den dorsalen Abschnitten des Implantatbettes finden sich vollständig von Knochen umschlossene Glaspartikel. In den noch übrigbleibenden Binnenräumen befindet sich lockeres Bindegewebe. Mehrkernige Riesenzellen werden wie auch bei den anderen Materialien seltener als in zentralen Abschnitten beobachtet. Ehemalige Spalten und Pouches sind mit Knochen ausgefüllt. Ähnlich wie bei Bioglass® 52s wirkt der Knochen-Partikel-Verbund nicht so ideal wie bei Bioglass® 45s5; dies mag jedoch mit durch die - wie bei 52s auch - größer als bei 45s5 erscheinenden Partikel bedingt sein. Das Anfärbe- und Degradationsverhalten der Partikel ist qualitativ ähnlich dem der anderen Materialien. In den an das Implantatgebiet angrenzenden Gebieten ist wie bei Bioglass® 45s5 und 52s Remodeling von Knochen beobachtbar.

## 3.2 Morphometrie

### 3.2.1 Gewebeantwort:

Bei der Gewebeantwort sollen die relativen Anteile an Knochen und Osteoid am Partikelinterface besprochen werden. Der Gewebetyp Chondroid wurde zwar beobachtet, doch eher im Rahmen eines Zufallsbefundes und fällt quantitativ nicht ins Gewicht. Der Gewebetyp Bindegewebe wurde definiert als Nicht-Knochen, Nicht-Osteoid, und Nicht-Chondroid. Er stellt unter Vernachlässigung des Chondroids somit ein Negativ zu den Knochen- und Osteoidanteilen dar und bedarf daher keiner gesonderten Analyse.

#### *Knochen:*

Zwei Formen der Darstellung wurden gewählt, um den Veränderungen am Partikelinterface gerecht zu werden. Zum einen wurde der prozentuale Knochenanteil am Interface für jede Schicht einzeln und über den Implantationszeitraum dargestellt (Abb. 3.2.1-3). Betrachtet man nun die Knochenverteilung über die einzelnen Schichten, so fällt auf, dass die Knochenbindung zum Zentrum hin (Schicht 5) zunehmend abnimmt. Darüber hinaus ist zu beobachten, dass der Unterschied zwischen den Schichten von Bioglass®45s5 zu 55s hin zunehmend abnimmt. Dies findet statistisch darin seinen Ausdruck, dass sowohl bei Bioglass®45s5 als auch bei Bioglass® 52s nach 28 d ein signifikanter Unterschied zwischen den Schichten besteht, der bei Bioglass® 55s nicht mehr nachzuweisen ist. Weiterhin fällt auf, dass sich vor allem die zentralen Schichten 3, 4 und 5 unabhängig von Material und Liegezeit mehr oder weniger auf demselben Niveau bewegen. Dieser Tatbestand wird später in der Diskussion des Modells noch einmal aufgegriffen und diskutiert. Als Ergebnis dieser Diskussion wurden die Schichten 1 und 2 zu einer peripheren, die Schichten 3, 4 und 5 zu einer zentralen Schicht zusammengefasst. Das biologische Reaktionsgefälle wird dadurch deutlicher widerspiegelt (Abb. 3.2.4-5).

In der Peripherie des Implantatbettes zeigt sich die unterschiedliche Kinetik der Knochenbindung für die einzelnen Materialien am deutlichsten. 45s5 und 52s weisen bereits nach 28 d einen Knochenkontakt von etwa 50 % auf, der im weiteren Verlauf nicht weiter zunimmt. 55s zeigt eine langsame, stetige Zunahme des Knochenkontaktes, welcher nach 84 d seine

maximale Ausprägung mit 43 % findet. Vergleicht man die Materialien untereinander, so weist 45s5 und 52s nach 28 d einen signifikant höheren Knochenkontakt auf als 55s. Nach 84 d lassen sich keine Unterschiede feststellen (Abb. 3.2.4).

Im Zentrum des Implantatgebietes zeigt sich für 45s5 und 52s ein Gipfel der Knochenbindung bei 28 d, der dann zu 84 d hin abnimmt. Lediglich 55s zeigt eine stetige Zunahme des Knochenkontaktes. Nach 84 d zeigen sich so entgegen der in der Peripherie beobachteten Kinetik umgekehrte Knochenbindungsverhältnisse: 55s zeigt mit 33 % den höchsten Knochenkontakt, 52s folgt mit 16 %, und 45s5 mit 11 %. Allerdings sind diese Unterschiede statistisch nicht signifikant (Abb. 3.2.5).

#### *Osteoid:*

Fasst man alle Schichten zusammen, indem man sie noch einmal mittelt, so beobachtet man bei allen Materialien einen signifikanten Unterschied der 28 d Gruppen gegenüber den Gruppen mit anderen Liegezeiten (Abb. 3.2.6). Die Materialien untereinander unterscheiden sich nicht. Betrachtet man die einzelnen Schichten über die Liegezeit, so läßt sich ähnliches wie beim Knochenkontakt beobachten. Bioglass®45s5 zeigt das stärkste Gefälle an Osteoidkontakt über die Schichten (Abb. 3.2.7), welches sich dann zunehmend bei 52s und 55s verliert. Insgesamt ist der Unterschied jedoch nicht so deutlich ausgeprägt wie beim Knochenkontakt, und es ist in der Tat so, dass dieser Unterschied statistisch erst nach der Unterscheidung in eine Kernzone und eine periphere Zone zutage tritt. Bioglass®45s5 und 52s weisen nach 28 d signifikant mehr Osteoid in der Kern- als in der Randzone auf. Bei 55s hingegen läßt sich kein signifikanter Unterschied feststellen.

#### *Knochenfläche in den Schichten A und B:*

Neben den Veränderungen im Implantatbett selber wurden Veränderungen in der unmittelbaren Umgebung untersucht. Es stand dabei die Frage im Vordergrund, inwieweit das Implantatmaterial die Knochenbildung außerhalb des Implantatbettes beeinflusst. Dazu wurde die Knochenfläche innerhalb zweier Meßzonen, den Schichten A und B, jeweils vermessen und über die Zeit beobachtet. Schicht A befindet sich direkt im Anschluß an das Implantatbett, Schicht B dann im Anschluß an Schicht A (siehe Abb. 2.5.1).

In Schicht B finden sich keine Unterschiede der Knochenfläche zwischen den Materialien bzw. über die Zeit. In Schicht A finden sich lediglich Unterschiede in der 7d Gruppe. Sowohl Bioglass®45s5 als auch 52s weisen zu diesem Zeitpunkt signifikant weniger Knochen auf als Bioglass®55s.

### **3.2.2 Materialantwort:**

Die Implantatmaterialien weisen abhängig von Material und Liegezeit unterschiedliche Degradationsmuster auf. Exemplarisch werden hier zwei Parameter besprochen, welche diesen Sachverhalt besonders gut widerspiegeln: der längste Durchmesser der Partikel und der prozentuale Anteil an Taschenformationen.

Alle Materialien verringern ihre Durchmesser signifikant nach 7 d. Bioglass®45s5 und 55s verringern dann noch einmal signifikant ihre Durchmesser nach 28 d. Die statistisch signifikanten Veränderungen bei 55s sind durch eine Zunahme des Durchmessers nach 7 d begründet (Abb. 3.2.8). Diese Zunahme könnte durch Anlagerung von Calcium-Phosphat aus der Umgebung an die Oberfläche der Partikel begründet sein. Die anderen Materialien sind löslicher und heben diesen Effekt der "externen" Anlagerung von Material somit auf (52s) bzw. überkommen diesen und verringern weiter ihre Durchmesser (45s5). Vergleicht man die Materialien untereinander, so ist in der 0 d Gruppe kein Unterschied ersichtlich. Bei 7 d und 28d jedoch weist Bioglass®55s signifikant größere Durchmesser auf als die beiden anderen Materialien. Nach 84 d sind die Durchmesser von Bioglass®45s5 signifikant kleiner als die von Bioglass®55s und 52s.

Ein weiteres Maß für das Degradationsverhalten der Partikel ist der prozentuale Anteil an Taschen innerhalb der Meßzone. Bioglass®45s5 zeigt mit einem Gipfel von 9,7 % nach 28 d einen frühen Zerfall der Partikel, während bei 52s und 55s dieser Grad der Degradation mit 12,6 % bzw. 9,4 % erst nach 84 d erreicht wird (Abb. 3.2.9).

### **3.2.3 Zählung mehrkerniger Riesenzellen:**

Die Riesenzellen wurden wie oben beschrieben für jedes Areal gezählt (Abb. 2.5.3). Berücksichtigt wurden 28 d und 84 d Gruppen, da sich nach 7 d keine Riesenzellen nachweisen ließen. Die Rohwerte der einzelnen Schnitte wurden gemittelt und als Scatterplots aufgetragen (Abb. 3.2.10-3.2.15). Die Auszählung der MNGC zeigt für alle Materialien eine Zunahme über die Zeit. Alle Materialien zeigen eine signifikante Zunahme der MNGC im Zentrum des Implantatgebietes, 55s zeigt auch in der Peripherie eine signifikante Zunahme. Vergleicht man die Materialien untereinander, so zeigen sich nach 84 d folgende Unterschiede (Abb. 3.2.16): 55s weist im Mittel fünf, 52s sieben und 45s5 neun MNGC pro Raster auf. Diese Unterschiede sind statistisch nicht signifikant, es finden sich jedoch im Trend ( $p < 0,09$ ) mehr Riesenzellen bei 45s5 als bei 55s. Die MNGC verhalten sich somit umgekehrt proportional zur beobachteten Kinetik des Knochenbindungsverhaltens der einzelnen Materialien.

Vergleicht man Kern- und Randzone der einzelnen Materialien untereinander, so lassen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede nach 28 d feststellen. Nach 84 d lassen sich für Bioglass®45s5 und 52s (Fig. 3.2.17) signifikant mehr Riesenzellen in der Kern- als in der Randzone nachweisen, 55s weist keine signifikanten Unterschiede auf.

## **3.3 Elektronenmikroskopie**

### **3.3.1 Vor Implantation:**

Die Partikel weisen eine irreguläre Form aus winklig gegeneinander versetzten Flächen auf. Bei hoher Vergrößerung sieht man eine geschlossene, facettierte Oberfläche mit flachen Vertiefungen und feinsten Rauigkeiten von etwa 500 nm (Abb. 3.3.1 - 3.3.3).

### **3.3.2 7 Tage:**

In der Übersicht ist die dichte Anordnung der Partikel im Implantatbett zu beobachten (Abb. 3.3.4). Veränderungen der Oberflächenstruktur lassen sich noch nicht nachweisen (Abb. 3.3.5), jedoch finden sich im TEM bei hoher Vergrößerung in den Randzonen einzelner Partikel Dichteunterschiede (Abb. 3.3.6), die auf einen physikochemischen Austauschprozess

hindeuten, ohne dass hierbei die Oberflächenmorphologie verändert wird. Das Material wird ausgelaugt. Im Backscatter-Elektronen-Modus (BSE-Mode) lassen sich diese Auslaugungsphänomene für einzelne Partikel in der Peripherie verifizieren. Im Zentrum hingegen sind noch keine Auslaugungsphänomene beobachtbar. Alle hier beobachteten Partikel weisen ein homogenes Signal auf; physikochemische Prozesse, welche zu einer Veränderung der chemischen Zusammensetzung des implantierten Materials führen, haben somit noch nicht stattgefunden bzw. sind nicht nachweisbar (Abb. 3.3.7). An der Oberfläche der Partikel haftet vielfach organische Matrix, und auch einzelne Zellen besiedeln die Oberflächen (Abb. 3.3.8 und 3.3.9).

### **3.3.3 28 Tage:**

Die Implantatmaterialien weisen nun vermehrte Zeichen der Degradation auf. Zahlreiche Spalten sind zu beobachten (Abb. 3.3.10). Dabei ist nicht auszuschließen, dass einige Spalten im Rahmen von Schrumpfungartefakten artefiziell entstanden sind. Bei stärkerer Vergrößerung wird auch die erosiv veränderte Oberfläche sichtbar (Abb. 3.3.11), die zum Teil Löcher aufweist, in denen sich organische Matrix befindet (Abb. 3.3.12 und 3.3.13). Nach 28 d lassen sich verschiedene Auslaugungszonen der Materialien im BSE-Mode nachweisen. Im Rahmen der hier durchgeführten lichtmikroskopischen Untersuchungen und vor allem durch die Charakterisierung von Bioglass<sup>®</sup>-Partikeln mittels Scanning-Electron-Microscope Energy-Dispersive-X-Ray-Spectroscopy (SEM-EDS) durch Gatti et al. [7] darf wohl angenommen werden, dass es sich bei den im BSE-Mode sichtbaren Schichten um eine äußere, calciumphosphatreiche Schicht handelt, an die sich eine siliziumreiche Schicht anschließt, die wiederum unverändertes Kerngebiet umlagert (Abb. 3.3.14).

Bei der Gewebeanantwort läßt sich die Apposition von knöcherner Matrix direkt an Partikeloberflächen beobachten (Abb. 3.3.15), so dass eine Bindung von Knochenmatrix mit dem Implantat (Abb. 3.3.16) besteht. Auch degradative Prozesse sind beobachtbar, die zellulär gesteuert zu sein scheinen (Abb. 3.3.17). Davon ist jedoch nicht das ganze Partikel betroffen, denn die ehemalige Grenzschicht bleibt weiter sichtbar und wird von Zellausläufern unterwandert, um an die Oberfläche des verbleibenden Partikels heranzureichen. Diese Beobachtung spricht für die zelluläre Aktivität bei der Degradation und erklärt partiell die

Aktivierung von Makrophagen und die Entstehung von multinukleären Riesenzellen (MNGC).

#### **3.3.4 84 Tage:**

Nach 84 d sind weitere Veränderungen am Material zu beobachten, welche zum Teil als punktförmige Ablagerungen auf den Partikeln imponieren. Es ist jedoch nicht klar, ob es sich um Ablagerungen oder degradative Prozesse handelt (Abb.3.3.18-19). Die Interpretation wird erschwert durch andere Partikel mit einer relativ glatten Oberfläche, welche allerdings wahrscheinlich im Rahmen der Aufarbeitung durch ein Brechen des Partikels entstanden sind (Abb. 3.3.20). In diesem Zusammenhang sind auch kristalline Präzipitate auf Partikeloberflächen beobachtet worden, bei denen jedoch ein Artefakt im Rahmen der Aufarbeitung unwahrscheinlich ist (Abb. 3.3.21). Diese Strukturen sind sehr ähnlich der Morphologie von Apatit-Ablagerungen, wie sie von Groot et al. [20] beschrieben wurden. Im BSE-Mode läßt sich ein Fortschreiten der Auslaugung nachweisen, so dass in der Peripherie des ehemaligen Implantatbettes viele Partikel nur noch eine calciumphosphatreiche Schicht aufweisen (Abb. 3.3.22).

Insgesamt fällt eine Verschiebung des Verhältnisses zwischen organischer Matrix und Partikeln zugunsten organischer Matrix auf. Dabei weisen die Partikel starke Oberflächenveränderungen auf.

Neben der bereits beschriebenen Knochenbildung und -bindung an Partikeloberflächen läßt sich eine zellulär vermittelte Degradation nachweisen. Dabei wurden zahlreiche MNGC und Makrophagen beobachtet. Die MNGC wiesen in der Mehrzahl morphologische Charakteristika von Fremdkörperriesenzellen auf (FBGC), lediglich in einem Fall wurde ein Osteoklast mit typischer sealing zone und resorption pits beobachtet (Abb. 3.3.24). Die Zellfortsätze unterwandern zum Teil die Partikeloberfläche (Abb. 3.3.23-25). Vermutlich wird so die Phagozytose von Partikeldebris erleichtert. Intrazellulär konnten morphologische Korrelate von Partikeldebris in Form von Stäbchen und Körnchen nachgewiesen werden (Abb. 3.3.25 - 29).