

Aus der

Orthopädischen Klinik und Poliklinik

der Ludwig-Maximilians-Universität, München

Direktor: Prof. Dr. med. Dipl.-Ing. Volkmar Jansson

**Die biologische Aktivität carbonfaserverstärkter-PEEK-
Verbundwerkstoffe in der murinen Synovialmembran**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von Fabian Becker
aus Neustadt an der Weinstraße

2012

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dipl.-Ing. Volkmar Jansson

Mitberichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Denitsa Docheva
Prof. Dr. Ralf Sodian

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Priv.-Doz. Dr. med. Sandra Utzschneider

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 22.11.2012

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	6
1.1. Thema der Arbeit.....	6
1.2. Das Kniegelenk	6
1.3. Gonarthrose	8
1.4. Knieendoprothetik	9
1.5. Abrieb und Verschleiß.....	11
1.6. Epidemiologische Daten.....	13
1.7. Die aseptische Prothesenlockerung.....	13
1.8. Pathomechanismus.....	14
1.9. Einflussgrößen	18
1.10. Prothesenmaterialien.....	20
1.10.1. Klassische Prothesenmaterialien.....	20
1.10.2. Polyaryletherketone, Faserkunststoffverbunde und deren Eigenschaften.....	22
1.10.3. Abriebverhalten des carbonfaserverstärkten PEEK.....	26
1.11. Leukozyten-Endothelzell-Interaktion.....	28
2. Ziel der Studie	32
3. Material und Methoden	33
3.1. Vorbemerkungen und Formalitäten.....	33
3.2. Versuchsmodell.....	33
3.3. Versuchsaufbau	34
3.4. Partikelherstellung und -analyse	34
3.5. Versuchstiere	38
3.6. Vorbereitung der Versuche	41
3.6.1. Narkose.....	41
3.6.2. Partikelinjektion	41
3.6.3. Venöser Katheter und intraoperative Überwachung.....	42
3.6.4. Mikrochirurgische Präparation.....	43
3.6.5. Tötung der Mäuse	44
3.7. Intravitalmikroskopie.....	44
3.7.1. Das Fluoreszenz-Intravitalmikroskop	44

3.7.2.	Leukozytenfärbung.....	45
3.7.3.	Plasmafärbung.....	45
3.8.	Datenerhebung	46
3.8.1.	Videoaufnahmen und Messungen.....	46
3.8.2.	Mikrozirkulatorische Parameter.....	46
3.8.3.	Leukozyten-Endothelzell-Interaktion	47
3.8.4.	Funktionelle Kapillardichte	48
3.9.	Histologische Untersuchung.....	48
3.9.1.	Präparatentnahme und Fixierung.....	48
3.9.2.	Färbung der histologischen Schnitte	50
3.9.3.	Auswertung der Präparate	50
3.10.	Verwendetes Material	52
3.11.	Statistik	55
4.	Ergebnisse	56
4.1.	Mikrozirkulatorische Parameter, Gewicht und Kniegelenksdurchmesser ...	56
4.2.	Leukozyten-Endothelzell-Interaktion	58
4.2.1.	Fraktion rollender Leukozyten.....	58
4.2.2.	Zahl adhärenter Zellen	59
4.3.	Funktionelle Kapillardichte	60
4.4.	Histopathologischer Score und Synovialmembrandicke.....	61
4.4.1.	Histopathologischer Score	62
4.4.2.	Synovialmembrandicke	63
5.	Diskussion.....	64
6.	Zusammenfassung	76
7.	Literaturverzeichnis	79
8.	Abbildungsverzeichnis	92
9.	Abkürzungen.....	94
10.	Danksagung	95
11.	Lebenslauf.....	96

1. Einleitung

1.1. *Thema der Arbeit*

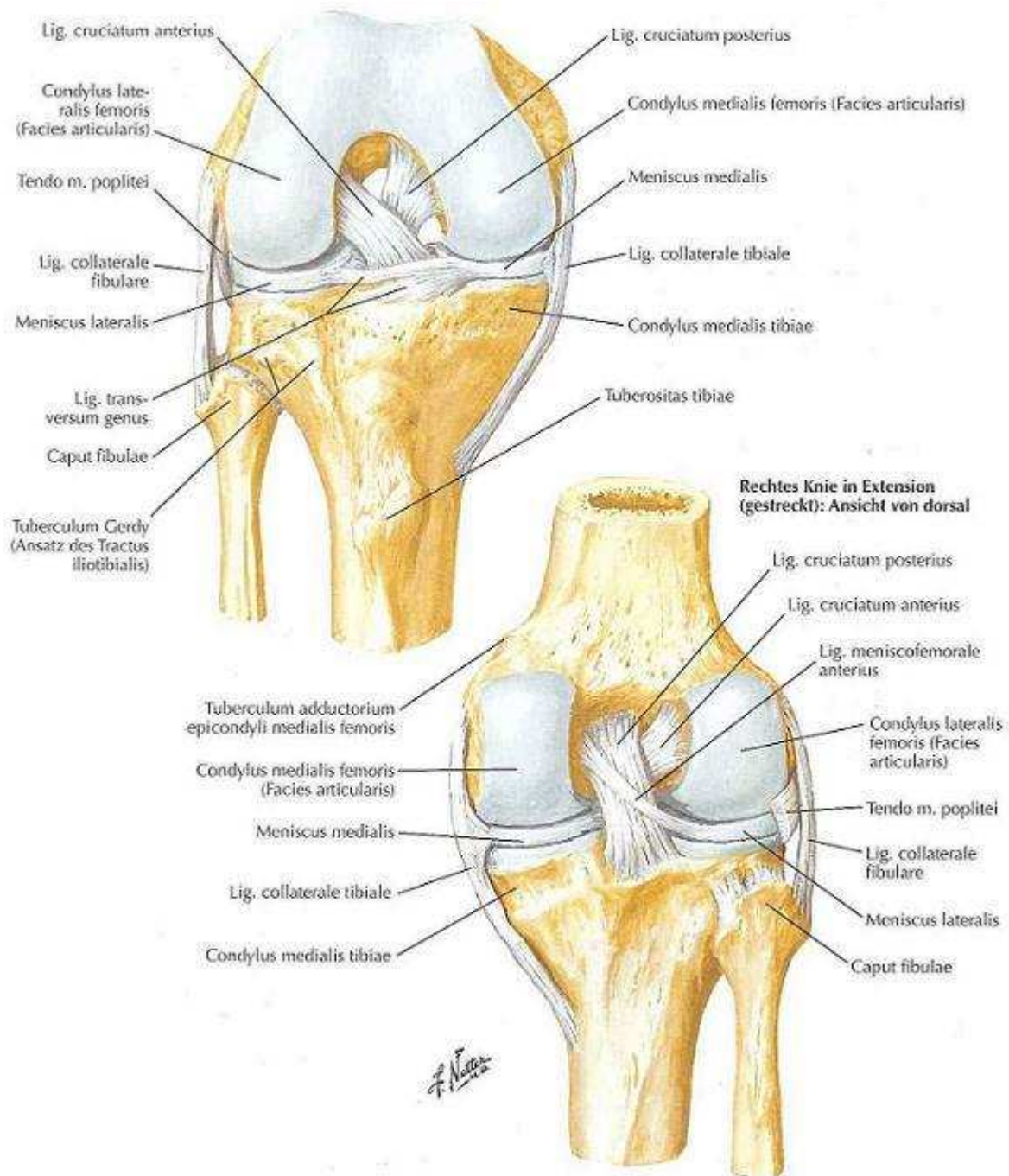
Thema der Arbeit soll die Rolle carbonfaserverstärkter Kunststoffe, im speziellen carbonfaserverstärkte Polyaryl-ether-ether-ketone (PEEK), als mögliche neue Werkstoffe in der Knieendoprothetik sein. Komplikationen wie Materialversagen herkömmlicher Prothesenwerkstoffe sowie die partikelassoziierte aseptische Prothesenlockerung stellen immer noch ein Problem in der Endoprothetik dar. Neue Möglichkeiten in der Prothesengleitpaarung könnten sich durch die Verwendung carbonfaserverstärkter-PEEK-Verbundwerkstoffe ergeben, welche hervorragende mechanische und chemische Eigenschaften aufweisen. Über die biologische Aktivität von Abriebpartikeln dieser Verbundwerkstoffe *in vivo* ist noch wenig bekannt. Die Arbeit befasst sich damit, inwieweit sich biologische Reaktionen auf Abriebpartikel dieser Werkstoffe von denen herkömmlicher Prothesenwerkstoffen unterscheiden.

1.2. *Das Kniegelenk*

Beim Kniegelenk (*Articulatio genu*) handelt es sich um ein Dreh-Scharnier-Gelenk.

(1) Das Kniegelenk, bestehend aus zwei Gelenkanteilen, wird unterteilt in den tibiofemorale Anteil und den patellofemorale Gelenkanteil. (1) Bei den artikulierenden Flächen des tibiofemorale Gelenkanteils handelt es sich um die Gelenkflächen der beiden Femurkondylen und den Gelenkflächen des medialen und lateralen Tibiakondylus. Beim patellofemorale Gelenkanteil artikulieren die *Facies articularis patellae* mit der *Facies articularis* des Femurs. (2) Die sich zwischen *Lig. patellae* und Quadrizepssehne befindliche Patella fungiert als Hypomochlion des Streckapparates des Kniegelenkes. (1) (siehe Abbildung 1-1)

Abbildung 1-1: Die Anatomie des Kniegelenkes; Quelle: (3)



Als Bandstrukturen liegen die beiden Kollateralbänder (Lig. collaterale tibiale et fibulare) extraartikulär, die Kreuzbänder (Lig. cruciatum anterius et posterius) intraartikulär vor. Die dorsale Gelenkkapsel wird durch weitere Bänder (Lig. popliteum obliquum, Lig. popliteum arcuatum und Lig. meniscofemorale) verstärkt. (1;2) Ventral im Bereich des Patellofemoralgelenkes wird die Kapsel durch das Retinaculum patellae mediale und laterale verstärkt. (1)

Als weitere Gelenkstrukturen verfügt das Kniegelenk über zwei Menisken (Meniscus medialis et lateralis), welche aus Faserknorpel bestehen. Sie vergrößern die Kontaktfläche der inkongruenten Gelenkflächen des Femurs und der Tibia. (1)

Die Mechanik des Kniegelenkes ist nicht nur die eines Scharniergelenkes. Daneben kommt es zu einer Gleitbewegung (anteriore und posteriore Translation) der Femurkondylen auf den Gelenkflächen des Tibiakopfes. (1;3)

Beugung und Streckung im Femoropatellargelenk beruhen auf einer Roll-Gleit-Bewegung der artikulierenden Gelenkflächen. (1)

1.3. Gonarthrose

Unter Gonarthrose versteht man den Verlust oder die degenerative Veränderung des Kniegelenkknorpels mit reaktiven Vorgängen benachbarter Gewebe wie Knochen und Gelenkkapsel. (4;5) Die Gonarthrose kann dabei auf nur einen Gelenkanteil beschränkt sein (s.g. unikompartimentelle Gonarthrose). Sind alle drei Kompartimente des Kniegelenkes betroffen, (mediales und laterales femorotibiales Kompartiment, retropatellares Kompartiment) spricht man von einer Pangonarthrose. (6)

Äthiologisch liegt der Degeneration des Knorpels ein Missverhältnis zwischen Belastung und Widerstandsfähigkeit des Knorpelgewebes zugrunde.

Man unterscheidet eine primäre und eine sekundäre Gonarthrose. (4) Die primäre Gonarthrose hat eine idiopathische Genese. Diskutiert werden stoffwechselbedingte und genetische Faktoren. Eine sekundäre Arthrose wird durch Achsfehlstellungen, Trauma, Entzündungen und Immobilisation begünstigt. (1;4) Auch spielen Faktoren wie Übergewicht und unphysiologische Belastungen eine große Rolle.

Die klinischen Beschwerden wie Belastungs-, Ruhe- oder Nachtschmerz, Einschränkung der Beweglichkeit und verringerte Gehstrecke führen zu einem erheblichen Leidensdruck für die Patienten. (4;5)

Radiologische Zeichen einer Arthrose sind die ungleichmäßige Verringerung des Gelenkspaltes, die Ausbildung subchondraler Sklerosierung, Geröllzysten und Osteophyten. (5;7)

Therapeutisch stehen neben konservativen Maßnahmen wie Reduzierung von Übergewicht, medikamentöser und physikalischer Therapie auch operative Maßnahmen zur Verfügung. (4) Als operatives Behandlungsverfahren hat sich die

Implantation eines künstlichen Oberflächenersatzes am Kniegelenk bewährt. (5;8;8-10)

1.4. Knieendoprothetik

Der künstliche Oberflächenersatz stellt das operative Behandlungsverfahren der Wahl der Gonarthrose dar. (6;11) Dabei erfolgen Resektion der degenerierten Gelenkflächen und Ersatz dieser durch künstliche Gelenkflächen (Endoprothese) – ähnlich dem Ersatz einer defekten Zahnoberfläche durch eine Krone. (8)

Je nach Umfang der prothetischen Versorgung unterscheidet man eine unikompartimentelle Oberflächenersatzprothese (siehe Abbildung 1-2) von der Totalendoprothese (TEP). Bei der Letzteren werden die gesamten Gelenkflächen des Gelenks durch künstliche Oberflächen ersetzt. (6;11) Diese ersetzen bei der bikondylären Oberflächenersatzprothese beide femorotibiale Kompartimente (siehe Abbildung 1-3), bei der trikompartimentellen Prothese zusätzlich das femoropatellare Kompartiment. (8)

Abbildung 1-2: Unikondyläres Kniesystem Univation F®, Aesculap AG, (Quelle: Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland)



Abbildung 1-3: Bikondyläres Kniesystem Columbus® CR, Aesculap AG, (Quelle: Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland)



Einzelne Bauteile sind die femorale Komponente, die tibiale Komponente sowie das Tibiaplateau-Inlay. Während tibiale und femorale Komponente der knöchernen Verankerung und dem Oberflächenersatz dienen, stellt das Tibiaplateau-Inlay das Roll- und Gleitlager der Gelenkprothese dar.

Eine typische Bauweise dieser Prothesen ist, wie auch bei der Hüft-TEP, das Modulprinzip der einzelnen Prothesenkomponenten. Je nach anatomischen Gegebenheiten können Prothesenkomponenten unterschiedlicher Größe bedarfsgerecht miteinander kombiniert werden.

Erlaubt ein defizitärer Kapselbandapparat des Kniegelenkes keine ausreichende Achsführung der Prothese, kann dies durch die Verwendung einer achsgeführten Totalendoprothese kompensiert werden. (6) Bei achsgeführten Prothesen liegt eine Koppelung der tibialen und femoralen Komponente vor, welche die achsgeführte Bewegung ermöglicht. (6;11) (siehe Abbildung 1-3)

Abbildung 1-4: Achsgeführte Knieendoprothese, Enduro® - Rotating Hinge Knee, Aesculap AG, (Quelle: Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland)



In Hinblick auf die Gleitpaarung werden die in der Knieendoprothetik verwendeten Prothesensysteme in zwei Gruppen unterteilt. Unterschieden werden mobile-bearing-Prothesen und fixed-bearing-Prothesen. Bei dem fixed-bearing System ist das Tibiainlay fest mit der tibialen Komponente der Prothese verbunden (fixed). Die Roll-Gleit-Bewegung sowie die Rotationsbewegung kommen durch die Artikulation des femoralen Oberflächenersatzes mit dem nicht beweglichen Inlay zustande. Beim mobile-bearing-Prinzip ist das Inlay nicht fest mit der tibialen Komponente verbunden, sondern kann vielmehr zusätzlich eine anterior-posteriore Gleitbewegung als auch Rotationsbewegungen durchführen (mobile). (6;12)

1.5. Abrieb und Verschleiß

Ähnlich dem Verschleiß nativer Gelenkflächen unterliegen auch der künstliche Oberflächenersatz und das Material der Gleitpaarung einer mechanischen Beanspruchung und Verschleiß. (5;13) Vor allem die beim Verschleiß der Polyethylen-Gleitpaarung entstehenden Abriebpartikel werden für die begrenzte

Standzeit (Lebensdauer) und notwendige Revision der Knieendoprothese verantwortlich gemacht. (14-18) Auf die derzeit diskutierten Mechanismen soll in den folgenden Kapiteln eingegangen werden. Jacobs et al. unterscheiden zwei Verschleißformen des Endoprothesenmaterials: Abrieb und Korrosion. (18) Unter Abrieb versteht man den Substanzverlust eines Werkstoffes durch mechanische Belastung unter Entstehung von Abriebpartikeln. (18-20) Unter Korrosion versteht man oxidative Prozesse, die zu einer chemischen Veränderung vor allem von Metallen führen. (19) Dabei kann es zur Entstehung von Oxidationsprodukten wie Metallionen kommen, die ebenfalls eine biologische Reaktion des Mediums hervorrufen können. (14;19)

Nach Jacobs et al. gibt es drei Mechanismen, die in der Gelenkendoprothetik zur Entstehung von Abriebpartikeln führen (18;20):

- 1) Abrasion - eine weiche Oberfläche wird von einer relativ härteren Materialoberfläche zerrieben
- 2) Adhäsion – beim Kontakt zweier Oberflächen kommt es zum Abziehen von Partikeln der weicheren Oberfläche durch die artikulierende Oberfläche
- 3) Ermüdung – alternierende Belastungen führen zur Ermüdung des Materials und zur Bildung von Brüchen unter der Materialoberfläche.

Eine Sonderform der Materialermüdung stellt die Delamination dar. Dabei führen mechanische Belastung und Scherkräfte zur Bildung von Ermüdungsbrüchen unterhalb der Materialoberfläche und zur Ablösung oberflächlicher Materialschichten. (5;18;21) Delamination und Materialermüdung werden als die wesentlichen Mechanismen bei der Entstehung von Abriebpartikeln in der Knieendoprothetik gesehen. (5;22) Weiterhin von Bedeutung ist die Entstehung von Abrieb durch dritte Körper, die zu einer Zerstörung der Materialoberflächen führen können (Third-body-wear/ „Drittkörperabrieb“). Dabei kann es sich um Fremdkörper wie zum Beispiel Zement-, Knochen- oder Metallpartikel handeln. (5;21) Die entstehenden Abriebpartikel akkumulieren im periprothetischen Gewebe und führen zu den in den Kapiteln 1.7. bis 1.8. dargestellten Gewebereaktionen. (14;15;20;23)

1.6. Epidemiologische Daten

Laut BQS-Qualitätsreport „Knie-Totalendoprothesen-Erstimplantation 2008“ wurden im Jahr 2008 ca.146.000 Knieendoprothesen implantiert. (24) Im Jahr 2006 belief sich die Zahl in Deutschland noch auf etwa 125.000 Knieendoprothesen. (25)

Eine aktuelle Meta-Analyse von Lützner et al. aus dem Jahr 2011, zum Thema Langzeitergebnisse in der Knieendoprothetik, untersuchte etwa 20.000 bikondyläre Knieendoprothesen auf deren Standzeit, Komplikationen und Revisionsrate. (8)

Laut dieser Studie beläuft sich die Meta-Revisionsrate bei Knie-TEP auf 4,4% nach durchschnittlich 11 Jahren. Als Gründe für die Revision der Prothesen wurden in dieser Studie die aseptische Prothesenlockerung mit 31% genannt, gefolgt von Infektion (23%), Polyethylenabrieb (16%), Patellabeschwerden (14%) und sonstigen mechanischen Ursachen (9%). (8)

Die Erhebung epidemiologischer Daten bezüglich Knieendoprothetik und deren Komplikationen erlaubt im europäischen Raum ebenfalls das schwedische Knieendoprothesenregister. Knie-Totalendoprothesen weisen demnach nach 10 Jahren Überlebensraten von 90-96% auf und bedürfen in etwa 7,5% einer Revision. (9;26) 44% der notwendigen Revisionen sind durch abriebassoziierte aseptische Prothesenlockerung bedingt. (9)

1.7. Die aseptische Prothesenlockerung

Unter der aseptischen Prothesenlockerung versteht man eine nicht-infektionsbedingte Komplikation der Gelenkendoprothetik. (15;27-29) Dabei handelt es sich um einen progredienten Verlust periprothetischen Knochengewebes, der zu einer abnehmenden Verankerung der Prothese im Knochen führen kann. (29) Die Lockerung der Prothese im Knochen führt zu Beschwerden und zu deren Funktionsverlust und kann lediglich durch die Revision der Endoprothese behoben werden. (8;15;27)

Die aseptische Prothesenlockerung ist als möglicher Endpunkt progredienter periprothetischer Osteolysen zu betrachten (29), deren Ätiologie in den

vergangenen Jahren intensiv erforscht wurde. (27;30-33) Ursächlich wird von einer Entzündungsreaktion des periprothetischen Gewebes ausgegangen. Folge dieser entzündlichen Aktivität ist die Bildung einer Pseudomembran oder „synovial-like-interface-membrane“ sowie ein periprothetischer Knochenverlust. (34)

Eine zentrale Rolle bei der Entstehung dieser Entzündungsreaktion wird hierbei dem Abrieb des Prothesenmaterials durch physikalische Kräfte zugeordnet. (12;23;29;35) Untersuchungen von Gewebeproben, die bei Revisionen gelockerter Prothesen entnommen wurden, zeigen eine direkte Korrelation zwischen dem Vorliegen von Abriebpartikeln, entzündlicher Aktivität und Osteolysen. (30;36) Weiterhin konnte festgestellt werden, dass Partikelmaterialien jeglicher Beschaffenheit zu Gewebereaktionen führen. (37-39) Beobachtet wurden phagozytierte Abriebpartikel, Bildung von Fremdkörpergranulomen, verstärkte Zellmigration, Bindegewebsreaktionen und Knochenlysen im periprothetischen Gewebe unter Anwesenheit von Abriebpartikeln. Es wird vermutet, dass die beobachteten Osteolysen die Folge einer durch Abriebpartikel induzierten Entzündungsreaktion sind. (29;30;34)

Die Aktivierung von Osteoklasten im Rahmen dieser Entzündungsreaktion erfolgt durch Zytokine und Entzündungsmediatoren wie TNF- α , IL-1 und IL-6, die von den an der Fremdkörperreaktion beteiligten Zellen freigesetzt werden. (23;29;33)

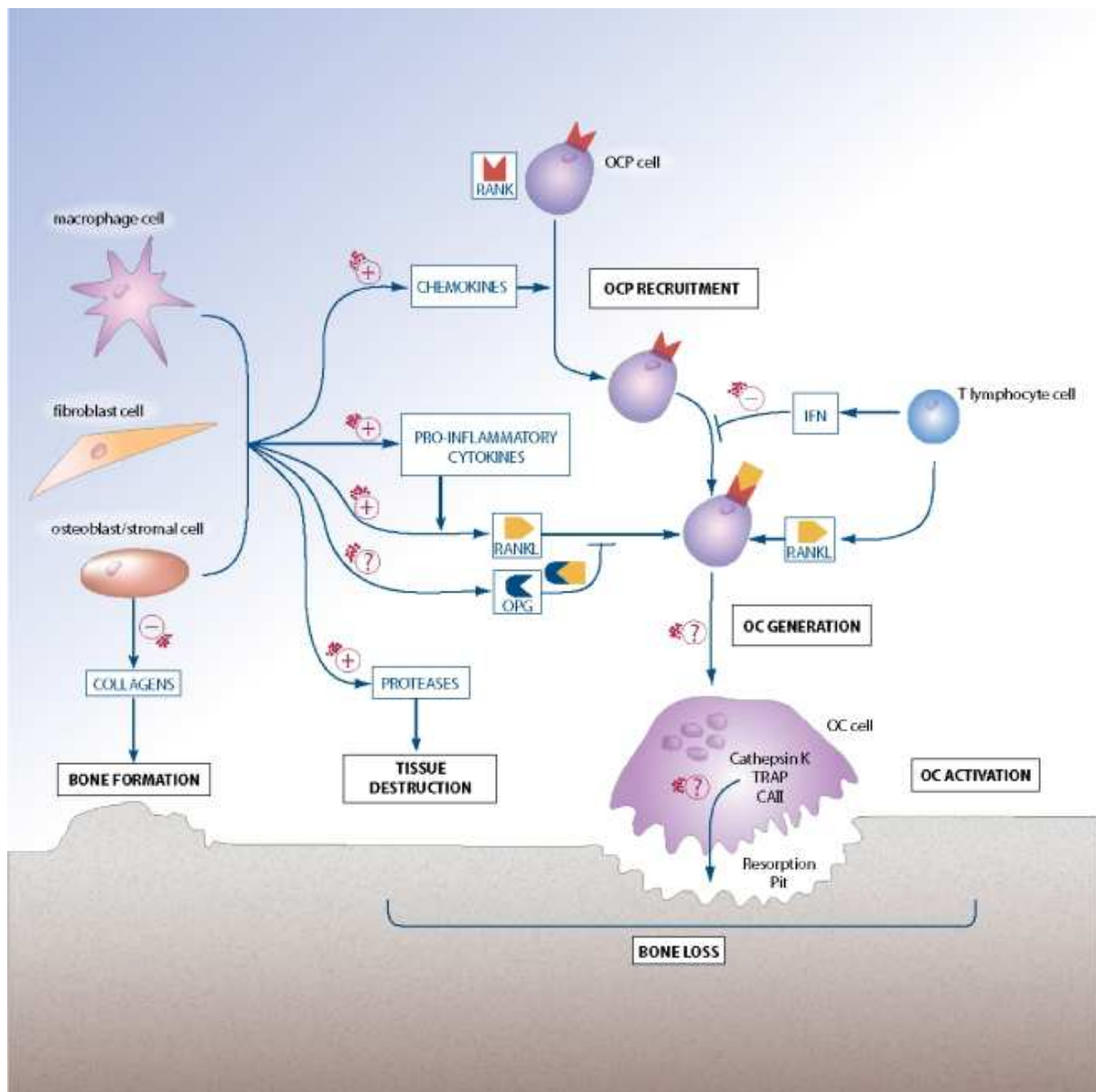
Auf den genauen Pathomechanismus der periprothetischen Osteolysen soll im Folgenden noch intensiver eingegangen werden.

1.8. Pathomechanismus

Die Entstehung von Abriebpartikeln und die biologischen Reaktionen werden einheitlich als der zentrale Mechanismus in der Entstehung periprothetischer Osteolysen anerkannt. (23;36-39) Durch die Freisetzung proinflammatorischer Botenstoffe kommt es zu einer gesteigerten Osteoklastenaktivität und dem damit verbundenen Knochenverlust. Von Schmalzried et al. (36) wurde das folgende Dogma formuliert: „Partikel – Makrophage – Osteolyse“. Dies verdeutlicht anschaulich die elementaren Prozesse und Beteiligten im komplexen

Pathomechanismus der „Partikelkrankheit“. Die aseptische Prothesenlockerung stellt lediglich den Endpunkt dieses progredienten Prozesses dar.

Abbildung 1-4: Schematische Darstellung des Pathomechanismus partikelinduzierter Osteolysen; Quelle: (23)



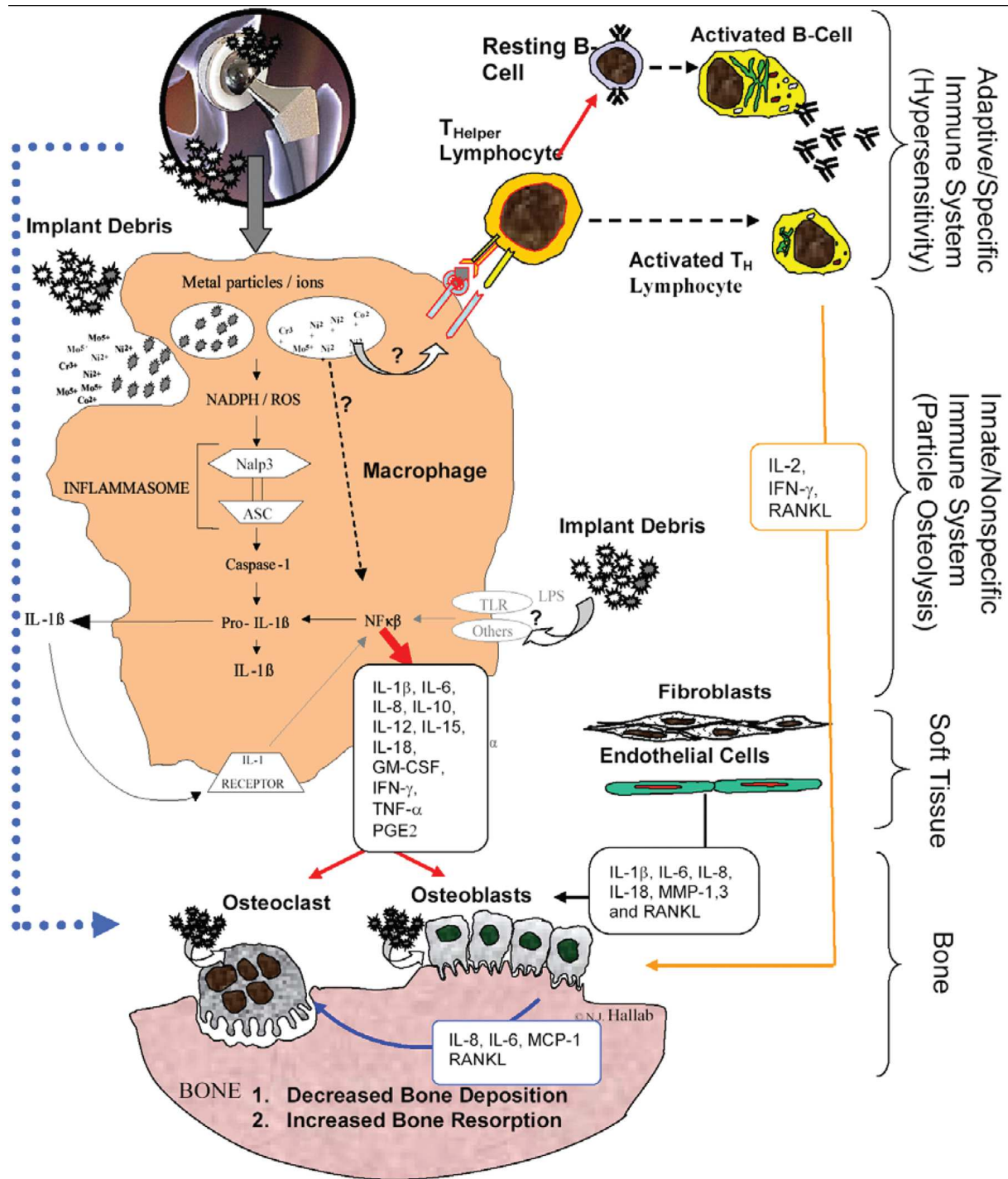
Eine entscheidende Rolle in der Entstehung periprothetischer Osteolysen spielen Zytokine, vor allem proinflammatorische Mediatoren, welche als Antwort auf die Phagozytose von Abriebmaterial gebildet werden. (23;40) Dabei handelt es sich vor allem um $TNF\alpha$, IL-1, IL-6 und PGE₂, deren Wirkmechanismen zwar unterschiedlich sind, in ihrer Gesamtheit jedoch auf verschiedenen Wegen zu einer Aktivierung von Osteoklasten führen. (23) Der Effekt der Entzündungsmediatoren $TNF\alpha$ und IL-1 ist

die Aktivierung und Rekrutierung weiterer immunkompetenter Zellen sowie Osteoklasten-Vorgänger-Zellen (OCP-cells) in das periprothetische Gewebe. (23)

Neben diesen chemotaktischen Prozessen kommt es durch TNF α und IL-1 auch zu einer direkten Aktivierung von Osteoklasten sowie zur Beförderung von Osteoklasten-Vorgänger-Zellen zu Osteoklasten. (23) Dabei spielt RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa B ligand) eine entscheidende Rolle bei deren Bildung. TNF α und IL-1, gebildet von Makrophagen, Fibroblasten, Osteoblasten und Lymphozyten, führen allesamt zu einer gesteigerten Expression von RANKL. Dies konnte auch in osteolytischen periprothetischen Geweben nachgewiesen werden. (23;41) Weiterhin wird davon ausgegangen, dass es auf verschiedenen Wegen zu einer Hemmung antiosteoklastogener Mechanismen kommt. (23)

Leukozyten sind nicht nur bei der Phagozytose von Abriebmaterial, dem Triggermechanismus von entscheidender Bedeutung, sondern auch bei der Induktion und Aufrechterhaltung weiterer entzündlicher Prozesse und den bereits beschriebenen osteolytischen Mechanismen. (41;42) (siehe Abbildungen 1-4 bis 1-5)

Abbildung 1-5: Die Phagozytose von Abriebmaterial, die Rolle der Metallionen und der Toll-like-Rezeptoren; Quelle: (19)



Durch diese Vorgänge und deren Aufrechterhaltung kommt es neben den oben beschriebenen Effekten auf die Knochenresorption auch zu den sonst für Entzündungsreaktionen typischen Effekten auf das periprothetische Gewebe, wie vermehrte Zellmigration, gesteigerte Vaskularisierung und in diesem Fall zur Bildung einer synoviaartigen Pseudomembran. (34;37-39;43). Für die gesteigerte

Zellmigration und leukozytäre Infiltration des periprothetischen Gewebes spielen Adhäsionsmoleküle eine wichtige Rolle. E-Selektin, sowie ICAM-1 und VCAM-1 führen zu einer gesteigerten Leukozyten-Endothelzell-Interaktion im Rahmen der chemotaktischen Wirkung oben genannter Entzündungsmediatoren. (34;37-39) Die von al-Saffar et al. beschriebene gesteigerte Vaskularisierung und Gefäßneubildung im periprothetischen Gewebe kann ebenfalls als inflammatorischer Mechanismus der partikelinduzierten Entzündungsreaktion gesehen werden. (34;44)

Zusammenfassend kann der Pathomechanismus partikelinduzierter Osteolysen als Zusammenspiel einer Vielzahl entzündlicher Mechanismen betrachtet werden. Diese führen zur einer vermehrten Zellrekrutierung und Osteoklastenaktivität, ausgelöst durch die Phagozytose vorliegenden Abriebmaterials und gesteuert durch Zytokine wie TNF α und IL-1.

1.9. Einflussgrößen

Diverse Einflussgrößen auf den partikelinduzierten Knochenverlust wurden bereits sowohl *in vitro* als auch *in vivo* auf deren Relevanz untersucht. Dabei zeigt sich, dass vor allem Größe (45;46), Form (33;46;47), Oberfläche, Volumen (48;48) und Partikelmaterial (39) entscheidende Faktoren darstellen, welche den inflammatorischen Prozess beeinflussen können.

Hinsichtlich der Partikelgröße ging man ursprünglich davon aus, dass Partikel in phagozitierbarer Größe (0,1-10 μm) als Auslöser der Entzündungsreaktion in Frage kommen. (32;33) Matthews et al. zeigten in einem *in vitro*-Versuch, bei dem humane mononukleare Phagozyten mit Polyethylenpartikeln bekannter Dosis und Größe inkubiert wurden (45), dass lediglich Partikel im Submikrometerbereich eine biologische Reaktion auslösen, stärkste biologische Aktivität jedoch bei Partikeln kleiner als 0,5 μm festgestellt werden können. Ein *in vivo* Versuch von Zysk et al. (38), bei dem die biologische Aktivität von intraartikulär applizierten Polystyrolpartikeln unterschiedlicher Größe mittels intravitalmikroskopischer Untersuchungen evaluiert wurde, zeigt, dass Partikel jeglicher Größe (0,5 μm , 2 μm ,

75 μm) *in vivo* eine Entzündungsreaktion hervorrufen können. Jedoch wurde beobachtet, dass die von kleinen Partikeln (0,5 und 2 μm) ausgelöste Entzündungsreaktion stärker ist als die von großen Partikeln (75 μm). Dies bestätigt den Verdacht, dass vor allem Partikel in phagozytierbarer Größe eine starke biologische Aktivität aufweisen, Partikel kleiner als 1 μm die höchste inflammatorische Potenz besitzen.

Auch zeigt sich, dass Parameter wie Form und Oberflächenbeschaffenheit von Abriebpartikeln Einfluss auf Phagozytose und Zytokin-Ausschüttung haben. Versuche von Sieving et al. (47) demonstrieren, dass bei Stimulierung von Makrophagen mit Partikeln unterschiedlicher Oberflächenstruktur (rau, glatt) und Form (rund, lang) die inflammatorische Antwort variiert. Dabei fällt eine besonders starke biologische Aktivität bei rauhen elongierten Partikeln auf. Die Ergebnisse lassen vermuten, dass sowohl Form als auch Oberfläche entscheidende Parameter sind und vor allem Merkmale wie eine elongierte Form und rauhe Textur starke Stimuli auf Makrophagen darstellen.

Das Material ist ebenfalls ein wichtiger Faktor in der Entstehung und der Stärke einer entzündlichen Reaktion auf das Vorliegen von Abriebpartikeln. Dabei ist die biologische Aktivität des Werkstoffes von großer Bedeutung. (39;49) Viele Versuche *in vitro* als auch *in vivo* (intraartikulär/subkutan) wurden zum Vergleich der inflammatorischen Potenz unterschiedlicher Materialien durchgeführt. (46;46;50) Dabei zeigt sich, dass Metalle, Metalllegierungen, sowie Kunststoffpolymere und deren Verbundwerkstoffe in Partikelform Unterschiede in ihrer biologischen Aktivität und Biokompatibilität aufweisen. (46;51)

Bei *in vivo*-Versuchen von Zysk et al. wurden Abriebpartikel von Titan, PMMA, Aluminiumoxid, PE und Co-Cr zu gleichen Volumenkonzentrationen und gleicher Größe intraartikulär ins Mäuseknie appliziert und die Entzündungsaktivität intravitalmikroskopisch als auch histologisch ermittelt. (39) Jedes Material provoziert *in situ* eine entzündliche Antwort, diese Reaktionen fallen jedoch bei den verschiedenen Materialien unterschiedlich stark aus. (39) Dabei zeigt sich weiterhin, dass Titanmikropartikel zwar inflammatorisch wirken, verglichen mit anderen in der Endoprothetik verwendeten Biomaterialien aber signifikant geringere inflammatorische Reaktionen provozieren. (39)

Ähnliche Versuche von Moore et al. (52), bei denen jedoch Mikropartikel unterschiedlicher Materialien mittels des „rat subcutaneous air pouch-Modells“ in Hinsicht auf deren Biokompatibilität verglichen wurden, weisen ebenfalls Unterschiede in der biologischen Aktivität verschiedener Materialien auf. Auffallend dabei sind unterschiedlich stark ausgeprägte entzündliche Reaktionen auf ähnliche Materialien, wie verschiedene Polymere (z.B. PEKK, PSF, PE, PMMA). (39;46;52) Zusammenfassend kann man davon ausgehen, dass sich Materialien stark in ihrer biologischen Aktivität und inflammatorischen Wirkung unterscheiden. Dass dies nicht einzig und allein auf die physikalische Widerstandsfähigkeit der Materialien zurückzuführen ist, sondern auch durch die Zusammensetzung und Struktur bedingt ist, zeigen oben genannte Versuche von Zysk und Moore. Zuletzt spielt auch die Menge des vorliegenden Partikelmaterials bzw. dessen Konzentration bei der Entstehung einer entzündlichen Reaktion eine Rolle. Dabei ist von einer direkten Beziehung zwischen der Menge der vorliegenden Partikel und der Stärke der biologischen Reaktionen auszugehen. (22;33;38;38;39;45;52).

1.10. Prothesenmaterialien

1.10.1. Klassische Prothesenmaterialien

Bei der Konstruktion von Endoprothesen ergeben sich verschiedene Komponenten mit unterschiedlichen Anforderungen im Hinblick auf die notwendigen Materialeigenschaften. Es ergeben sich sowohl lasttragende als auch tribologisch beanspruchte Komponenten. Für die Materialauswahl spielen Abriebverhalten und Biokompatibilität entscheidende Rollen. (12;13;53)

Die Femur- sowie die Tibiakomponente stellen die knöchernen Verankerung der Prothese in den beiden artikulierenden Knochen sowie den künstlichen Oberflächenersatz der Gelenkflächen dar (siehe Abbildung 1-2 bis 1-4). Das Inlay der Prothese ist als Gleitpaarungskomponente ein Bauteil mit wesentlicher tribologischer Beanspruchung. (12;13)

Unabhängig von deren Bauform hat sich bei der Konstruktion einer Knieendoprothese die Paarung einer Kunststoff- und Metallkomponente bewährt, um den unterschiedlichen physikalischen Beanspruchungen gerecht zu werden. (26)

In der Knieendoprothetik findet für das Inlay klassischerweise UHMWPE (ultra-high-molecular-weight-polyethylene) Verwendung, bei der Materialauswahl für den Oberflächenersatz werden in erster Linie CrCoMo-Legierungen (Chrom-Cobalt-Molybdän) oder Zirkoniumdioxid verwendet. (13;54;55)

Schwierigkeiten bei den zementierten Knochenverankerungen der CrCoMo-Legierung der Tibia- und Femurkomponente stellen die Biokompatibilität bzw. das Einwachsverhalten im Knochen dar. (56) Das in Hinblick auf die Biokompatibilität äußerst günstige Titan kann trotz seiner hervorragenden Eigenschaften nicht ohne Weiteres den Ansprüchen lasttragender Komponenten im Bereich der Verankerung in Tibia und Femur genügen. Dabei steht das Problem der Prothesenfrühlockerung im Vordergrund. (57) Verglichen mit zementierten Prothesen aus anderen Werkstoffen, wurden bei zementierten Prothesen aus Titan erhöhte Lockerungsraten beobachtet, welche mit der Paarung der beiden Werkstoffe Titan und Zement in Zusammenhang gebracht werden. (58) Erklärt wird dies durch eine bei zementierten Titanschaften beobachtete Spaltkorrosion zwischen Endoprothese und Zementlager. Das Titan wird von einer Schicht Titanoxid überzogen. Durch minimale Bewegungen und Reibungen des Titanschaftes im Zementlager wird dieser Titanoxidentmantel abgeschliffen. Man nimmt an, dass die Oxidation des elementaren Titans unter Sauerstoffverbrauch und damit unter Ansäuerung des umgebenden Gewebes erfolgt und zur Zerstörung des umgebenden Zements führt. (59;60)

Da sich die Verwendung von Titan bei zementierten Prothesen als problematisch herausgestellt hat, sind bei der Materialauswahl bei künstlichen Oberflächenersätzen CrCoMo-Legierungen oder Zirkoniumdioxid die bevorzugten Werkstoffe. (60-62)

In der Knieendoprothetik kommt als Gleitpaarungskomponente vorwiegend UHMWPE zur Verwendung. (15;63;64) Vorteile des UHMWPE sind neben der Biokompatibilität die leichte Verarbeitung sowie der günstige Preis des Materials bei akzeptablen mechanischen Eigenschaften. (5) Trotz der guten Eigenschaften dieses Werkstoffes, ist die Haltbarkeit der aus PE gefertigten Bauteile durch die Materialeigenschaften des PE limitiert. (5;15;63;65-67)

Neben Abrieb sind in der Knieendoprothetik Materialversagen und Materialbrüche sowie eine Ermüdung des Materials durch oxidative Prozesse problematisch. (63) Der Materialabrieb stellt eines der Hauptprobleme bei der Verwendung von UHMPWE in der Endoprothetik dar. (5;18;63) Die mangelnde Widerstandsfähigkeit des PE ist häufig ursächlich für den Ausfall aus PE gefertigter Prothesenbauteile. (63)

Eine weitere Schwierigkeit bei der Verwendung von PE als Prothesenwerkstoff stellt die durch oxidative Prozesse bedingte Schädigung des Materials dar. (15;63) Es wurde eine Ermüdung des PE sowohl unter Sauerstoff *in vivo*, als auch in der Atmosphäre beobachtet. Als Ursache wird die Entstehung freier Radikale durch ionisierende Strahlung angesehen, welche unter Anwesenheit von Sauerstoff zu einem oxidativen Abbau des PE führt. (5;64;68) Dieser als „Altern“ des Materials bezeichnete Prozess konnte sowohl *in vivo* als auch *ex vivo* beobachtet werden und führt zu einer Verringerung der Widerstandsfähigkeit des Materials. (5;63) Da radioaktive Strahlung sowohl zur Herstellung spezieller PE-Derivate als auch zur Sterilisation von Endoprothesen verwendet wird, ist die Sensibilität des PE gegenüber ionisierender Strahlung von Nachteil. (5;49)

Moderne Materialien wie Faserkunststoffverbunde eröffnen neue Möglichkeiten in der Endoprothetik, sowohl im Bereich lasttragender und verankernder Komponenten, als auch beim Einsatz als Gleitpaarung. (49;55;69) Auf die Eigenschaften dieser Materialien und vor allem die Unterschiede zu herkömmlichen Kunststoffen in der Endoprothetik soll in den folgenden Kapiteln eingegangen werden.

1.10.2. Polyaryletherketone, Faserkunststoffverbunde und deren Eigenschaften

Unter Verbundwerkstoffen versteht man Werkstoffe, welche aus mindestens zwei miteinander vereinigten Komponenten hergestellt werden und somit unterschiedliche Eigenschaften dieser Materialien miteinander kombinieren. (70;71) Es ist eine Vielzahl von Verbundwerkstoffen bekannt, im Folgenden soll jedoch fokussiert auf die Faserkunststoffverbunde eingegangen werden. Faserverstärkte Kunststoffe

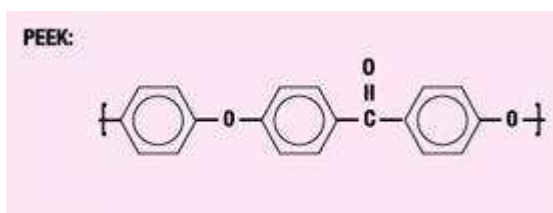
bestehen aus einem Fasergeflecht umgeben von einer Kunststoffmatrix. (65) Dabei verleiht die Faserverstärkung dem Kunststoff (Duroplaste oder Thermoplaste) gezielte Eigenschaften in Hinblick auf dessen Stabilität und physikalische Widerstandsfähigkeit. (72) Als Faserverstärkung können sowohl Glasfasern als auch Carbonfasern dienen. Je nach Faserart, -gehalt, -länge und -orientierung lassen sich Verbundwerkstoffe mit definierten physikalischen Eigenschaften konstruieren, die denen der alleinigen Matrixsubstanz überlegen sind. (72;73)

Eine aus medizinischer Sicht bedeutsame Entwicklung bei den Verbundwerkstoffen ist die Verwendung von Derivaten der Polyaryletherketon-Familie (PAEK) als Matrixsubstanz carbonfaserverstärkter Kunststoffe. (49;72-76)

Am Beispiel des PEEK (Polyetheretherketon), einem Derivat der PAEK-Familie, sollen im Folgenden die Eigenschaften dieses Kunststoffes, dessen Faserverbundwerkstoffe sowie deren medizintechnischen Nutzbarkeit erläutert werden.

PEEK ist ein aromatisches Polymer, bei dem die Aromaten alternierend durch zwei Ethergruppen und einer Ketongruppe miteinander verbunden sind (siehe Abbildung 1-6).

Abbildung 1-6: Strukturformel PEEK; Quelle: www.ce-mag.com



Das aromatische Polymer des PEEK verleiht dem Kunststoff seine besonderen Eigenschaften, die denen aliphatischer Polymere (PE) überlegen sind. (49;76) Die Polyaryletherketone und deren Derivate gehören zu den „high-temperature-thermoplastic-polymers“ und sind in Hinblick auf ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften von den „low-temperature-thermoplastic-polymers“ wie UHMWPE abzugrenzen. (49) Als high-temperature-thermoplastic-polymer ist PEEK selbst bei mehr als 300°C temperaturbeständig (49;72;76) und resistent gegen eine Vielzahl chemischer und ionisierender Einflüsse. (49;76)

Besonders die Resistenz gegenüber Strahlung macht PEEK aus sterilisationstechnischen Gründen für medizinische Zwecke interessant. (49;73;76) Auch nach wiederholter Sterilisierung in Luft scheint das bei UHMWPE bekannte ionisierungsassoziierte Altern des Materials bei PEEK keine Relevanz auf dessen mechanische Eigenschaften zu haben. (73) Demnach ist es auch möglich, PEEK unter gewöhnlichen atmosphärischen Bedingungen mit Gamma-Strahlung zu sterilisieren, ohne Qualitätseinbußen durch oxidative Prozesse befürchten zu müssen, wie es bei UHMWPE der Fall ist. (49;73)

Da PEEK auf Grund seiner chemischen Struktur nahezu inert ist, weist dieses Material eine hohe Biokompatibilität auf. Es konnten keinerlei Hinweise auf Toxizität oder Mutagenität des PEEK, wie auch des carbonfaserverstärkten PEEK festgestellt werden. (49;75)

Weiterhin lassen sich die mechanischen Eigenschaften des PEEK durch Kombination mit Faserverstärkung beliebig im Hinblick auf Elastizität und Stabilität modifizieren und verbessern. (49;65;70;71;74)

Carbonfaserverstärktes PEEK ist auf Grund seiner Biokompatibilität und mechanischen Eigenschaften zu Implantationszwecken bei hoher physikalischer Beanspruchung geeignet und findet sowohl in der Wirbelsäulenchirurgie als auch in der Gelenkendoprothetik und der Traumatologie Verwendung. (49;55;74-76)

Wie sich das Vorliegen dieses Materials als Mikropartikel auf die biologische Aktivität auswirkt und sich von herkömmlichen Materialien in der Endoprothetik unterscheidet, soll zu einem späteren Zeitpunkt in dieser Arbeit behandelt werden.

Morphologische Unterschiede bei den Carbonfaserverbundwerkstoffen des PEEK ergeben sich aus Fasergehalt, -länge- und -orientierung sowie aus den unterschiedlich hergestellten Carbonfasern, die hierbei verwendet werden. (65).

So können die Carbonfasern entweder durch Pyrolyse von Polyacrylnitril (PAN) oder von Pech (engl.: pitch) hergestellt werden. (65) An den Abbildungen 1-7 und 1-8 ist deutlich zu erkennen, dass je nach Herstellungsart der Carbonfasern, Fasern unterschiedlicher Morphologie und damit auch unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften entstehen.

Abbildung 1-7: Mikrostruktur CFR-PEEK-pitch (Quelle: Aesculap AG, Tuttlingen)

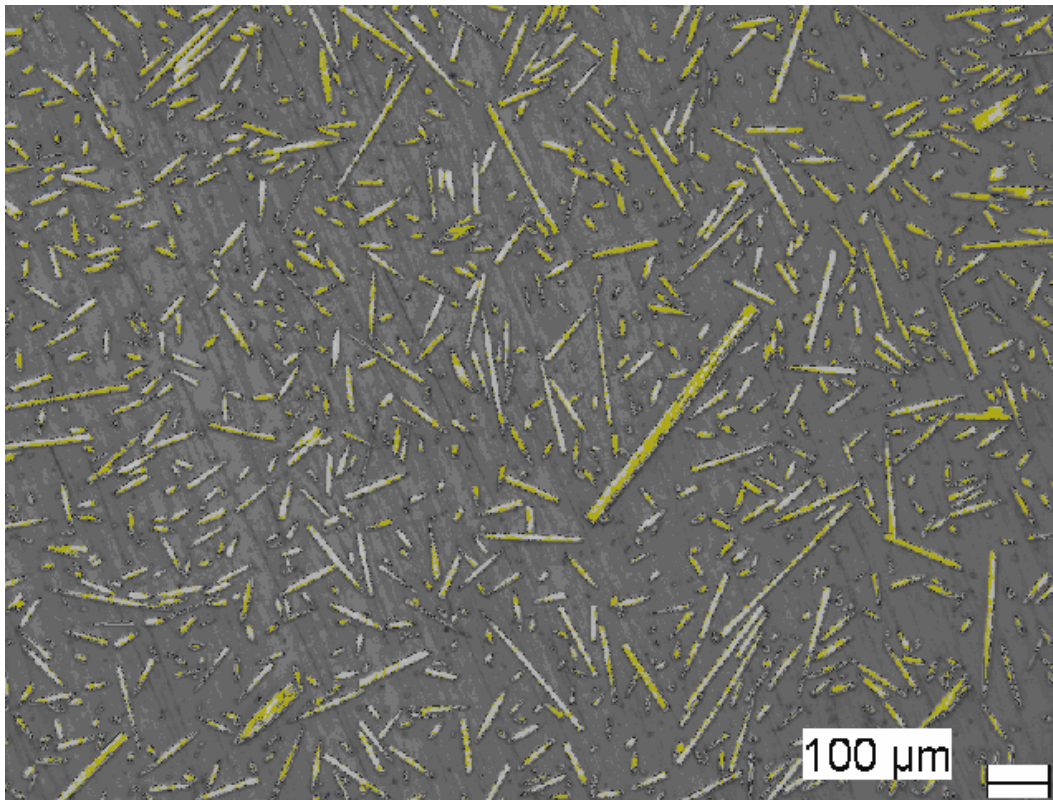
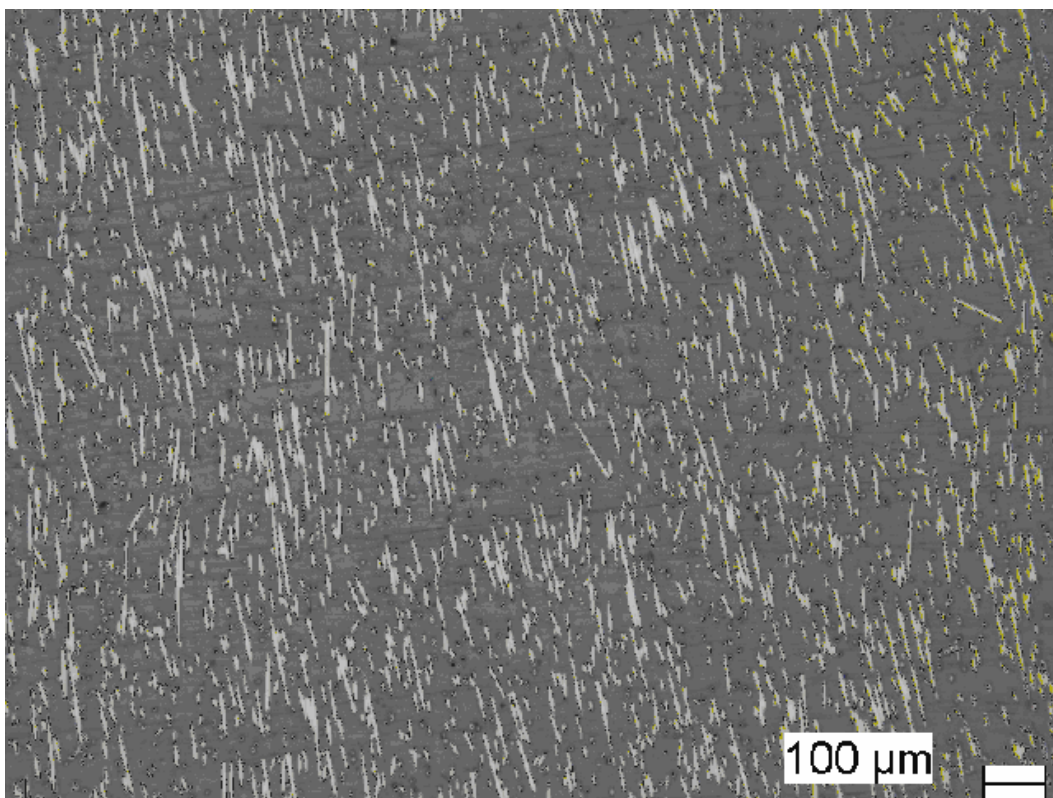


Abbildung 1-8: Mikrostruktur CFR-PEEK-PAN (Quelle: Aesculap AG, Tuttlingen)



1.10.3. Abriebverhalten des carbonfaserverstärkten PEEK

Das Abriebverhalten der Prothesenmaterialien ist von großer Bedeutung. Die Biokompatibilität eines Werkstoffes hängt stark von dessen Abriebverhalten ab, stellt es doch in Form von Mikropartikeln in erster Linie die bioaktive Form des Werkstoffes dar. (49)

Es gibt unterschiedliche Methoden, um das Abriebverhalten eines Werkstoffes bzw. von Werkstoffkombinationen für endoprothetische Zwecke *in vitro* zu untersuchen. Neben aufwendigen Kniegelenkssimulatoren erlauben auch vereinfachte pin-on-plate-Versuche, das Abriebverhalten von Werkstoffen zu ermitteln. Bei pin-on-plate-Versuchen handelt es sich um tribologische Test bei dem ein zu untersuchender Werkstoff unter Druck und Friktion auf einer Materialoberfläche bewegt wird. (69) Im Hinblick auf neu zu erprobende Werkstoffe ist es von besonderer Relevanz, das Abriebverhalten dieser Materialien mit bereits verwendeten Werkstoffen zu vergleichen bzw. zu untersuchen, welche Werkstoffkombinationen sich besonders eignen. (55;69;77;78)

Im Rahmen der Erprobung von Verbundwerkstoffen wie CFR-PEEK wurde auch das Abriebverhalten dieser Substanzklasse untersucht. (12;55;77;78) Eine kleine Übersicht über diese Tests sowie die daraus gezogenen Erkenntnisse sollen im Folgenden gegeben werden.

In einem Pin-on-plate-Versuch von Scholes (55), bei dem PEEK, sowohl pitch- als auch PAN-basiertes CFR-PEEK und verschiedene CrCoMo-Legierungen gegeneinander geprüft wurden, wurde gezeigt, dass karbonfaserverstärktes PEEK einen deutlich niedrigeren Abrieb aufweist als unmodifiziertes PEEK. Dabei liegt der Abrieb von CFR-PEEK-pitch und CFR-PEEK-PAN je nach CrCoMo-Verbindung

(0,123-0,209^{*}) bei rund 1/40 des Abriebs von unbehandeltem PEEK gegen low-carbon- CrCoMo. (7,37^{*})

Verglichen mit dem Abrieb von UHMWPE gepaart mit Edelstahl, welcher unter gleichen Bedingungen bei etwa 1,1^{*} lag, erzeugte CFR-PEEK nur einen Bruchteil des Abriebs des UHMWPE. (77)

Unterschiede im Abriebverhalten zwischen CFR-PEEK-pitch und CFR-PEEK-PAN waren nur sehr gering und wiesen auch in einem weiteren Versuch (78), gepaart mit unterschiedlichen Keramik-Platten, keinerlei Signifikanz auf. CFR-PEEK-pitch zeigte geringere Abriebwerte als CFR-PEEK-PAN, wenn auch nicht signifikant. (78)

Eine Veröffentlichung von Scholes und Unsworth über einen Simulatorversuch zur Paarung von Metall auf CFR-PEEK-pitch in einer unikondylären Knieendoprothese bestätigt ebenfalls die Beobachtung, dass der Abrieb von Metall auf karbonfaserverstärktem Kunststoff geringer ist als bei der konventionellen Paarung von Metall auf UHMWPE. (69;77)

In Simulationsversuchen zur Verwendung pitch- und PAN-carbonfaserverstärkter PEEK-Verbundwerkstoffe in einer unikondylärer Knieendoprothese von Grupp et al. konnten weitere, zum Teil differenziertere Erkenntnisse über diese Gleitpaarung gewonnen werden. CFR-PEEK-Verbundwerkstoffe erwiesen sich in den Versuchen als geeignet, den Abrieb der Gleitpaarung zu reduzieren. Unterschiede ergaben sich dabei jedoch in Abhängigkeit von der Kongruenz der Gleitpaarung. (22) So zeigten sich große Unterschiede im Abriebverhalten von PAN-carbonfaserverstärktem PEEK und pitch-carbonfaserverstärktem PEEK in einer fixed-bearing unikompartimentellen Knieendoprothese mit nur geringer Kongruenz der Gleitpaarungskomponenten. (22) Die Eignung carbonfaserverstärkter-PEEK-Verbundwerkstoffe in der Knieendoprothetik und deren Abhängigkeit von der Beschaffenheit der Gleitpaarung wird derzeit noch intensiv diskutiert. (22;79)

^{*} für die Werte gilt:

$$x 10^{-6} \frac{\text{mm}^3}{\text{mm}}$$

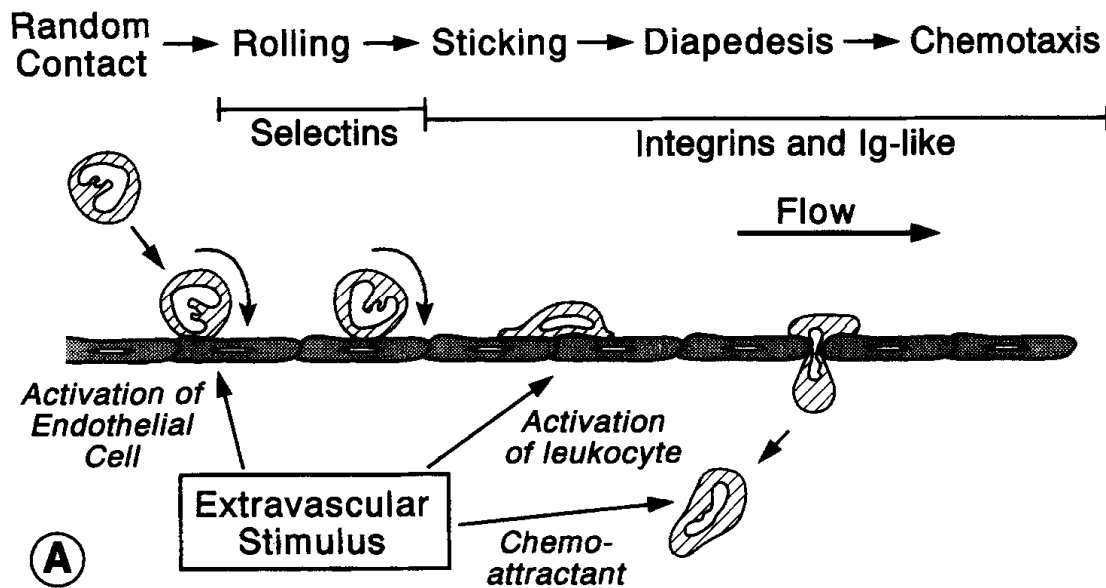
1.11. Leukozyten-Endothelzell-Interaktion

Entzündliche Veränderungen in Geweben sind charakterisiert durch Gefäßweitung und damit Steigerung der Durchblutung, Veränderung der Gefäßpermeabilität für Flüssigkeit und damit Ödembildung sowie den Austritt von Leukozyten aus den Blutgefäßen in das umliegende Gewebe, die s.g. Diapedese. (42;44) Ausgelöst und gesteuert werden diese Mechanismen durch inflammatorische Botenstoffe, die von geschädigtem Gewebe oder von immunkompetenten Zellen im Gewebe freigesetzt werden. Die Botenstoffe wirken chemotaktisch, d. h. sie wirken fördernd auf die weitere Rekrutierung und Auswanderung von Leukozyten in das geschädigte Gewebe. (23;80)

Die Diapedese der Leukozyten läuft dabei in mehreren Schritten ab. Für den Austritt entscheidend ist das Anheften der Leukozyten an der Endothelwand, anschließend erfolgt der Durchtritt der Leukozyten durch das Endothel in das perivaskuläre Gewebe. (42;44;81)

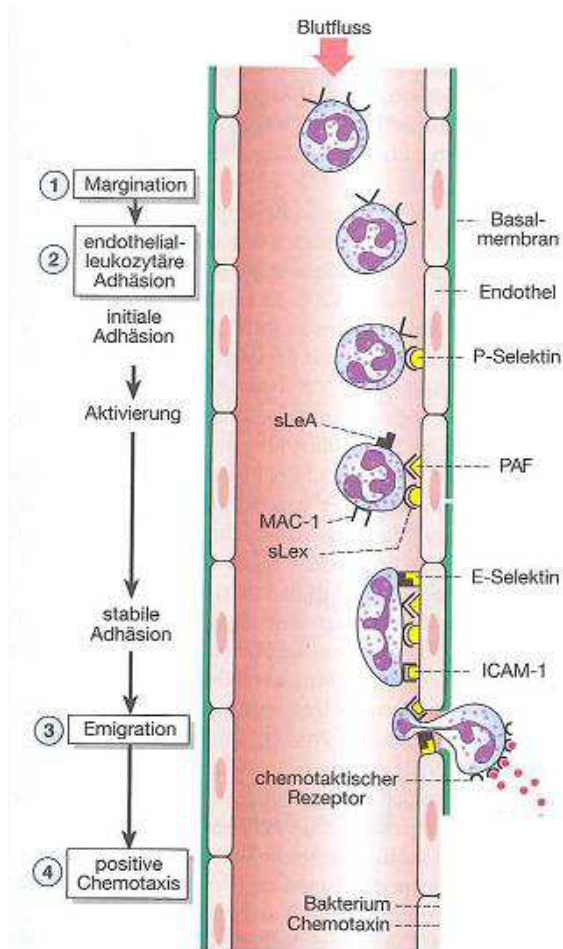
Der Begriff Leukozyten-Endothelzell-Interaktion beschreibt diese Wechselwirkungen zwischen Blutzellen und Gefäßwand. Der primäre Kontakt kommt durch ein zufälliges Berühren des Endothels durch einen Leukozyten im vorbeifließenden Blutstrom zustande. (82;83) Durch die Entstehung vorübergehender Bindungen zwischen Oberflächenmolekülen der Leukozyten und Adhäsionsmolekülen an der Endothelzelloberfläche „rollen“ die Leukozyten zunächst an der Endothelwand (s.g. rolling). (82;84;85) Später, nach Ausbildung einer festen Verbindung zwischen den Zellen, bleiben die Leukozyten am Endothel „kleben“ (s.g. „sticking“). Am Ort des Anheftens erfolgt der Durchtritt der Leukozyten durch die Gefäßwand (Diapedese). (44;86) (siehe Abbildung 1-9)

Abbildung 1-9: Leukozyten-Endothelzellinteraktion; Quelle:(82)



Für die einzelnen Schritte sind unterschiedliche Oberflächen- und Adhäsionsmoleküle verantwortlich. Der Kontakt zwischen Endothelzellen und Leukozyten und damit das „Rollen“ oder Margination der Leukozyten kommt durch Selektine (P- und L-Selektin) zustande. (87) Dabei handelt es sich um Adhäsionsmoleküle, welche durch die Wirkung pro-inflammatorischer Mediatoren wie $\text{TNF-}\alpha$ und IL-1 verstärkt auf der Oberfläche von Endothelzellen exprimiert werden. (86) Weitere Adhäsionsmoleküle wie z. B.: ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) oder VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) sowie $\beta 2$ -Integrine bilden die feste Bindung im Rahmen des Anheftens der Leukozyten aus. (42;85;86;88;89) Die transendotheliale Migration der Leukozyten erfolgt ebenfalls Integrin- und PECAM-1 (platelet and endothelial cell adhesion molecule-1) vermittelt. (86;87) (siehe Abbildung 1-10)

Abbildung 1-10: Leukozyten-Endothelzellinteraktion inklusiv der beteiligten Oberflächenmoleküle; Quelle:(44)



Die transendotheliale Migration von Leukozyten stellt einen entscheidenden Schritt jeder entzündlichen Reaktion dar. (44) Die Messung der Leukozyten-Endothelzell-Interaktion ist durch die Verwendung intravitalmikroskopischer Techniken und entsprechender Anfärbung von Leukozyten praktisch in jedem Gewebe möglich. (90;91) Dies erlaubt die Quantifizierung entzündlicher Aktivität und damit auch Aussagen über die Stärke entzündlicher Reaktionen, die von Antigenen oder Fremdkörpern wie Abriebpartikeln hervorgerufen werden. (37;92) Daneben erlaubt die fluoreszenzgestützte Intravitalmikroskopie von Geweben die Messung mikrozirkulatorischer Parameter wie Perfusion und Neoangiogenese des Gewebes, welche im Rahmen entzündlicher Vorgänge beobachtet werden. (34;37;38)

Veihelmann et al. beschrieben die Messung der Leukozyten-Endothelzell-Interaktion als ein neues Verfahren zur Messung entzündlicher Veränderungen der Synovialmembran z.B. im Rahmen der rheumatoiden Arthritis. (92-94)

Veränderungen der Leukozyten-Endothelzell-Interaktion und der Gewebepfusion konnten ebenfalls in Folge intraartikulärer Mikropartikelinjektion am murinen Kniegelenk festgestellt werden. (37-39)

Von Zysk et al. wurden die Methode zur Messung veränderter Leukozyten-Endothelzell-Interaktion als direkte Reaktion auf das Vorliegen von Abriebpartikeln vorgestellt.

Neben weiteren Methoden wird dies in der Literatur als ein geeignetes Verfahren diskutiert, um die initialen Reaktionen und Schritte des Pathomechanismus der Entstehung periprothetischer Osteolysen zu untersuchen. (37-39)

2. Ziel der Studie

Ziel der Studie ist, zwei Sorten von CFR-PEEK-Verbundwerkstoffen und UHMWPE auf die von ihnen ausgelösten biologischen Reaktionen zu untersuchen und diese zu unterscheiden. Bei den Verbundwerkstoffen handelt es sich um pitch- und PAN-Carbonfaser-verstärktes PEEK. Trotz einer Vielzahl etablierter Versuchsmodelle zur Erforschung biologischer Reaktionen auf Abriebpartikel, sind in der Literatur nur wenige Versuche zu finden, in denen diese *in vivo* bzw. im Kniegelenk erforscht wurden. (37-39) Aus diesem Grund soll die biologische Aktivität der genannten Materialien mittels eines intravitalmikroskopischen Modells am Kniegelenk der Maus erforscht werden. Die biologischen Reaktionen sind anhand von Veränderungen der Leukozyten-Endothelzell-Interaktion, Gefäßproliferation sowie histopathologischen Veränderungen der Synovialmembran durch die Materialien zu untersuchen.

3. Material und Methoden

3.1. Vorbemerkungen und Formalitäten

Die im Folgenden beschriebenen Versuche wurden vom Verfasser dieser Arbeit in der Zeit zwischen Februar 2008 und Dezember 2008 durchgeführt. Der operative Teil sowie die Unterbringung der Versuchstiere erfolgte dabei im Walter-Brendel-Zentrum an der LMU München, Standort Großhadern. Alle weiterführenden Untersuchungen wie die Anfertigung der histologischen Präparate und die Aufarbeitung der Schnitte wurden im Institut für Biomechanik und Experimentelle Orthopädie durchgeführt. Eine Genehmigung der unten vorgestellten Versuche durch die Regierung von Oberbayern lag vor.

3.2. Versuchsmodell

Der Versuchsaufbau zur Untersuchung der biologischen Reaktion auf die in der Einleitung vorgestellten UHMWPE- und Faserverbundwerkstoff-Mikropartikel basiert auf dem von Veihelmann et al. vorgestellten Modell zur Untersuchung mikrozirkulatorischer Prozesse im Kniegelenk der Maus. (92) Zysk et al. verwendeten das Modell zur Untersuchung inflammatorischer Prozesse der Kniegelenkssynovialmembran als Reaktion auf intraartikulär appliziertes Partikelmaterial. (37-39) Das Modell erlaubt die Erfassung und Untersuchung von Ursachen und Einflussgrößen auf Vorgänge innerhalb der Synovialmembran, welche mit der aseptischen Prothesenlockerung in Verbindung gebracht werden. (37-39) Eine detaillierte Beschreibung des Versuchsaufbaus und der Durchführung wird im Folgenden gegeben. Eine Auflistung sämtlicher, bei den Versuchen zur Verwendung gekommener Materialien und Geräte, sowie Hersteller und Bezugsquelle findet sich im Kapitel 3.10 „Verwendetes Material“.

3.3. Versuchsaufbau

Zur Datenerhebung erfolgte an Tag 1 der Versuche das Einbringen des Partikelmaterials in das murine Kniegelenk. Dabei wurden 50 µl der entsprechenden Partikelsuspensionen in die Gelenkkapsel des linken Knies injiziert. Bei den Mäusen der Kontrollgruppe wurde 50 µl endotoxinfreies phosphate-buffered-saline (PBS/Phosphat-gepufferte isotone Kochsalzlösung) verwendet. Am Tag 8 der Versuche erfolgten bei den Mäusen aller Versuchsgruppen die mikrochirurgische Präparation, die intravitalmikroskopische Untersuchung sowie die Präparatentnahme zur histologischen Untersuchung der manipulierten Knie. Post interventionem dienten die an Tag 8 durchgeführten Untersuchungen und Präparatentnahmen der Datenerhebung. Diese wurden auf Unterschiede der mikrozirkulatorischen Parameter, der Leukozyten-Endothelzell-Interaktionen und der histopathologischen Veränderungen untersucht. Die genaue Durchführung der hier genannten Versuchsschritte wird im Folgenden detailliert beschrieben.

3.4. Partikelherstellung und -analyse

Die in diesem Versuch zur Verwendung kommenden Mikropartikel wurden als bereits injektionsfertige Proben von der Fa. Aesculap (Tuttlingen, Deutschland) zur Verfügung gestellt.

Bei den zu untersuchenden Materialien handelt es sich um folgende Werkstoffe:

1. UHMWPE (GUR 1020)
2. Carbonfaserverstärktes PEEK-OPTIMA mit einem Faseranteil von 30% pitch-basierten Carbonfasern¹⁾
3. Carbonfaserverstärktes PEEK-Optima mit einem Faseranteil von 30% PAN-basierten Carbonfasern²⁾

Alle zur Verwendung gekommenen Partikelproben wurden durch die Firma Continuum Blue (Ystrad Mynach, Hengoed, United Kingdom) endotoxinfrei hergestellt.

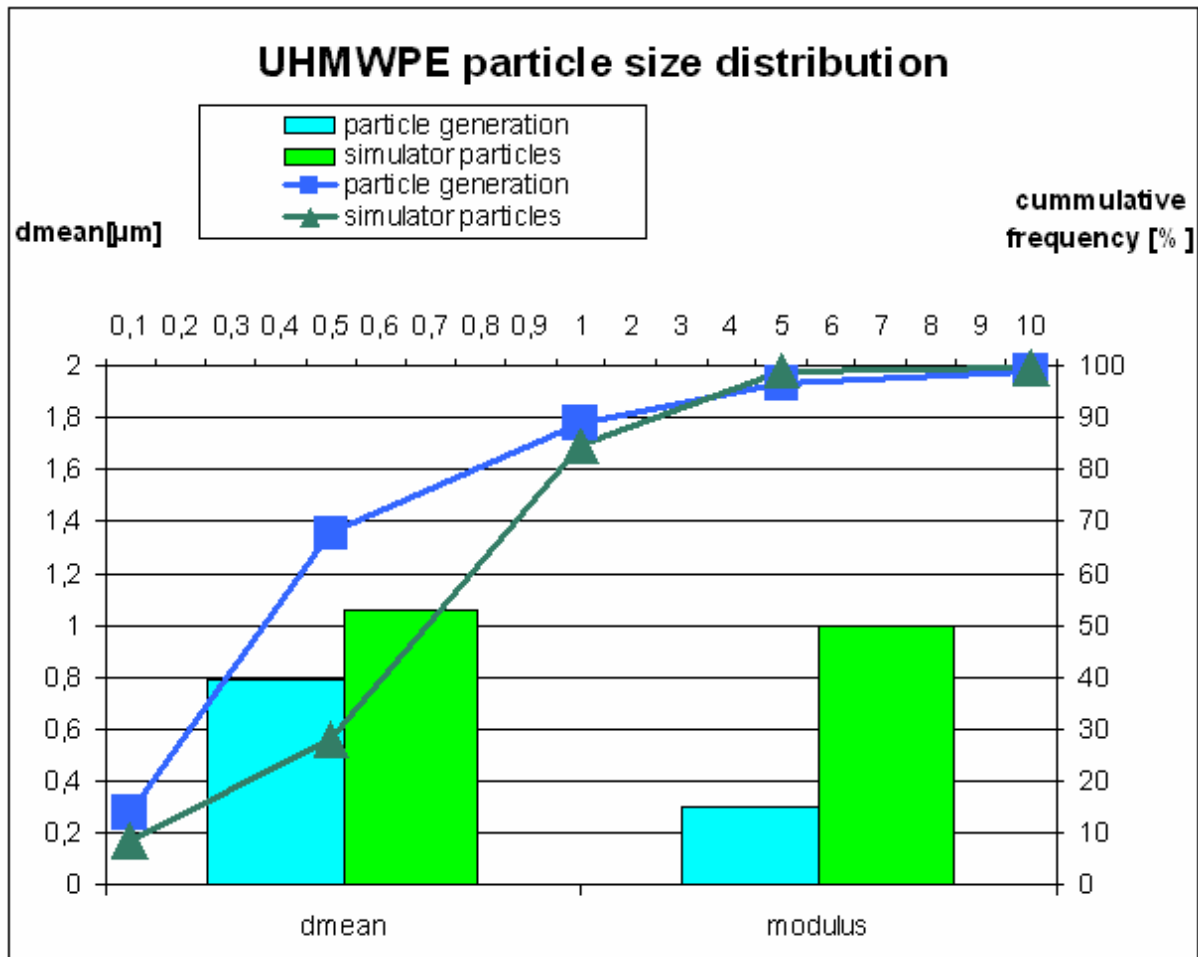
Die Herstellung der Mikropartikel erfolgte nach Verpackung der Prothesenmaterialien unter Stickstoffatmosphäre und Gamma-Sterilisation mit 30 kGy durch Kryopulverisierung unter flüssigem Stickstoff. Die Mikropartikel wurden zu einer Konzentration von 0,1 Vol% in PBS suspendiert und anschließend durch Gamma-Bestrahlung sterilisiert und auf Pyrogenfreiheit geprüft.

Zur Isolierung und Analyse des entstandenen Partikelmaterials diente ein von Affatato et al. und Niedzwiecki et al. beschriebenes Verfahren. (95;96) Das Größenspektrum der entstandenen Partikel ist in den Abbildungen 3-1 bis 3-3 dargestellt, im Vergleich mit in Simulationsversuchen entstandenem Partikelmaterial. Die so hergestellten Mikropartikelproben entsprechen, wie in den Graphiken gezeigt, im Hinblick auf Größe und prozentualen Anteil annähernd dem Größenspektrum von in Kniesimulationsversuchen entstandenem Partikelmaterial, sind jedoch nicht mit diesen identisch. (siehe Abbildungen 3-1 bis 3-3)

¹ PEEK-OPTIMA (LT1 CP 30), Invivo Ltd. Thornton-Cleveleys, UK

² PEEK-OPTIMA (LT1 CA 30), Invivo Ltd. Thornton-Cleveleys, UK

Abbildung 3-1: UHMWPE; durchschnittliche Partikelgröße und kumulative Häufigkeit der Mikropartikel aus Kryo-Pulverisierung und aus Simulationsversuchen (22)



Vergleicht man das Größenspektrum der Abriebpartikel der beiden CFR-PEEK-Verbunde, so fällt bei dem Kryo-Pulverisat des CFR-PEEK-PAN ein deutlich kleinerer durchschnittlicher Durchmesser des intraartikulär applizierten Partikelmaterials auf (CFR-PEEK-PAN: 0,285 µm), als bei CFR-PEEK-pitch (1,22 µm) und bei UHMWPE (0,791 µm). (siehe Abbildung 3-1 bis 3-3)

Die Zusammensetzung und das Größenspektrum der Mikropartikel in den UHMWPE- und CFR-PEEK-pitch-Partikelproben ist mit dem der Simulationsversuchen vergleichbar. Bei den CFR-PEEK-PAN-Partikeln ist ein Unterschied zwischen dem Größenspektrum der Mikropartikel aus dem Kryo-Pulverisat und den Partikeln aus Simulationsversuchen erkennbar. (siehe Abbildung 3-3)

Abbildung 3-2: CFR-pitch-PEEK; durchschnittliche Partikelgröße und kumulative Häufigkeit der Mikropartikel aus Kryo-Pulverisierung und aus Simulationsversuchen (22)

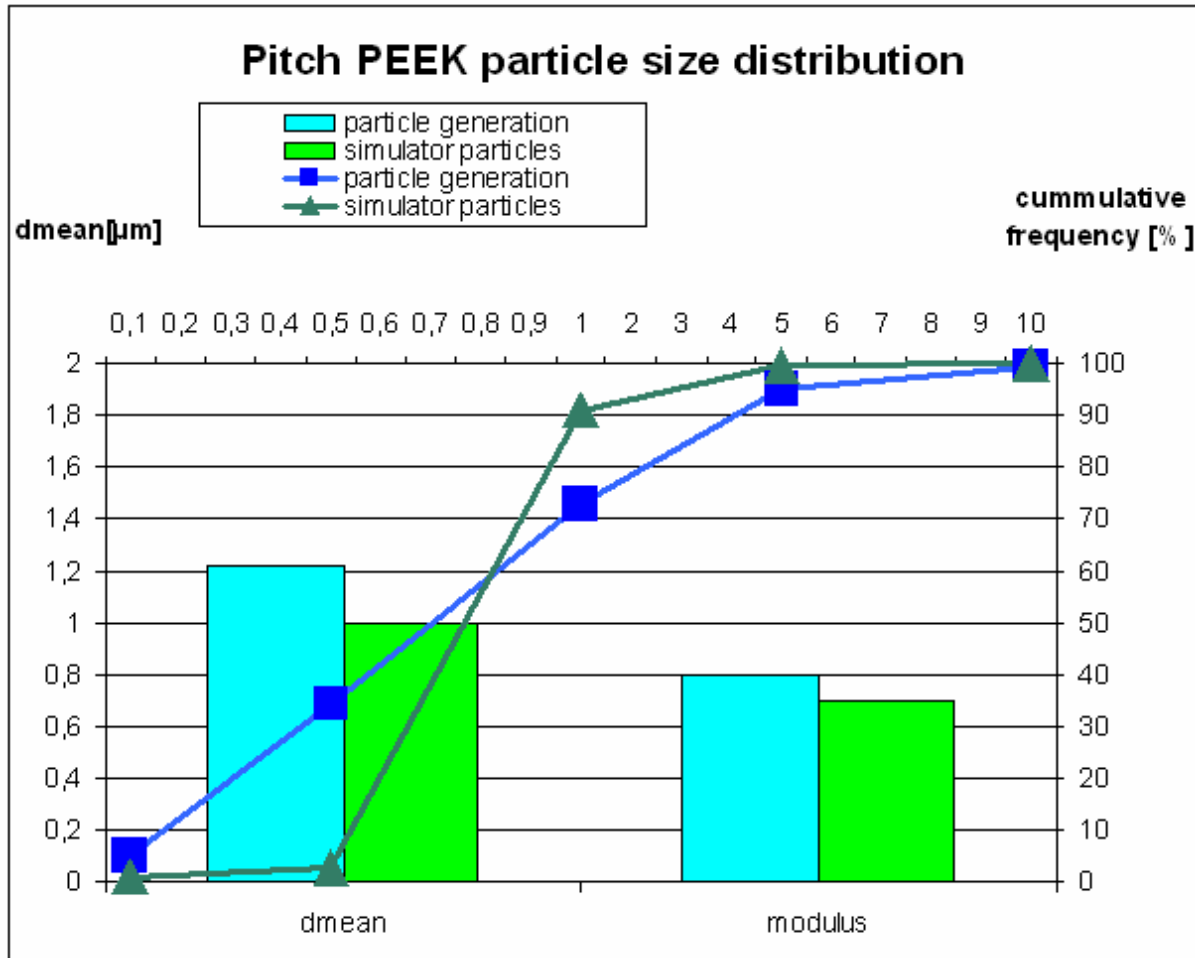
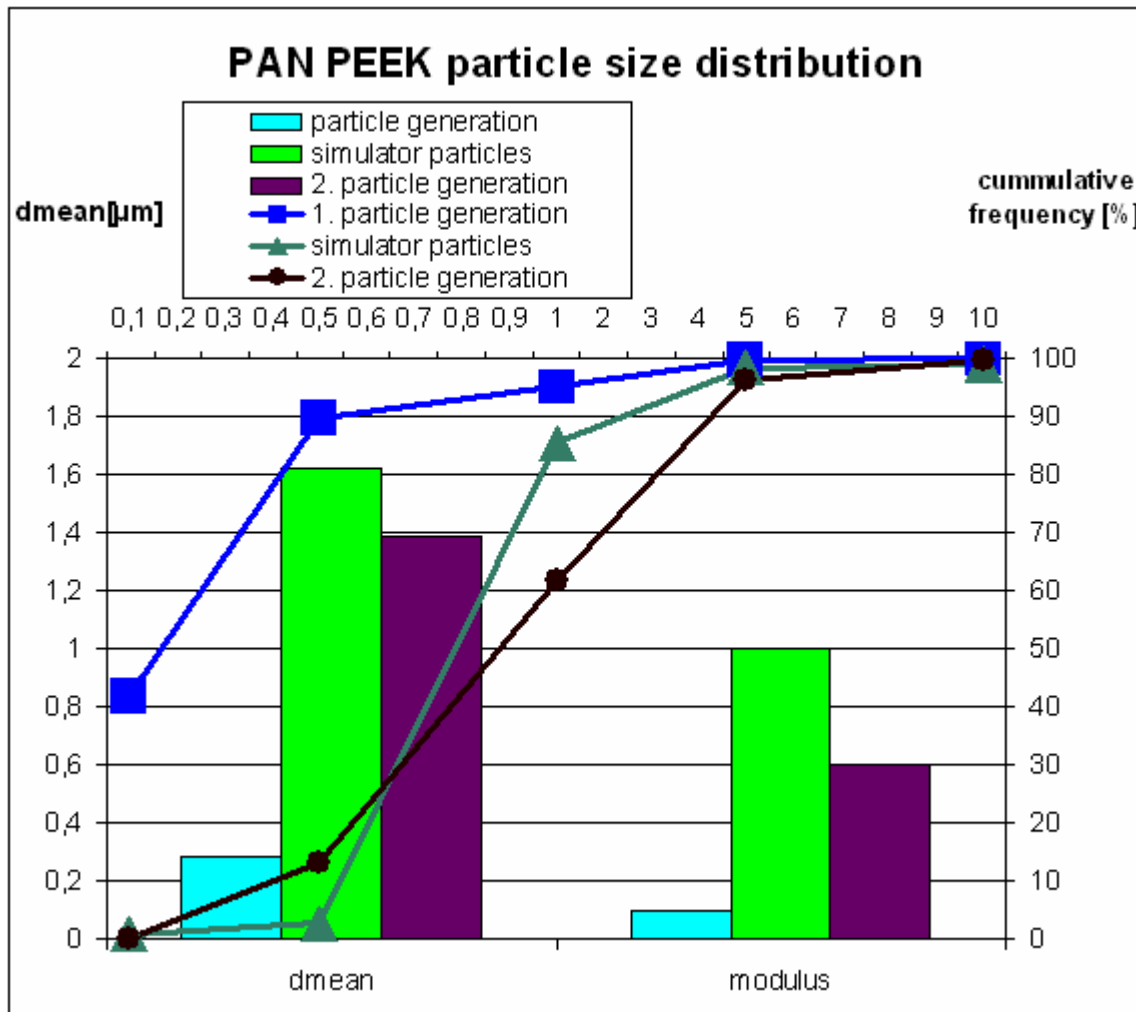


Abbildung 3-3: CFR-PAN-PEEK; durchschnittliche Partikelgröße und kumulative Häufigkeit der Mikropartikel aus Kryo-Pulverisierung und aus Simulationsversuchen (22)



3.5. Versuchstiere

Alle im Folgenden beschriebenen Versuche wurden mit weiblichen Balb-C-Mäusen der Firma Charles-River durchgeführt. Die Mäuse hatten ein Gewicht von 17-25 g bei einem Alter von 8-10 Wochen.

Die Mäuse wurden randomisiert den 4 Untersuchungsgruppen von je 10 Mäusen zugeteilt. Eine Nummerierung der Mäuse erfolgte innerhalb einer Versuchsgruppe erst bei Versuchsbeginn. Die zugeteilte Nummer behielt die Maus während des

ganzen Versuchszeitraums und wurde auch bei der histologischen Aufarbeitung post mortem beibehalten.

Während des Versuches wurden die Mäuse einzeln in einem Käfig gehalten, vor Versuchsbeginn befanden sich je fünf Mäuse in einem Käfig.

Die Käfige wurden in den Räumen der Tierhaltung des Walter-Brendel-Zentrums aufbewahrt.

Als Nahrung für die Tiere diente Trockenfutter und Leitungswasser. Während der Versuchszeit erfolgte eine Gewichtskontrolle der Mäuse. An Tag 1 und Tag 8 wurde das Gewicht der Mäuse gemessen. Ferner folgte eine Bestimmung des Kniegelenkdurchmessers des linken Knies an Tag 1 und Tag 8 des Versuchs. (siehe hierzu Versuchsprotokoll)

Versuchsprotokoll:

Einzelversuchsprotokoll

Modell zur Beobachtung der synovialen Mikrozirkulation der Maus in Vivo

Bioaktivität von Abriebpartikeln

Projektnummer:

Gruppe:

Maus:

Eingangsdatum:

Balb/C weiblich

Versuchsbeginn:

Gewicht zu Versuchsbeginn:

Kniedurchmesser zu Versuchsbeginn:

Versuchsende:

Gewicht zu Versuchsende:

Kniedurchmesser zu Versuchsende:

IVM (Dauer):

Videokassettennummer:

Rhodamin: 1.
 Aufnahme
 2.
 Aufnahme
 3.
 Aufnahme

FITC 1.
 Aufnahme
 2.
 Aufnahme
 3.
 Aufnahme

Tötung::

Organentnahme:

Histo		RNA	
	1	Knie li.(mit Partikeln)	1 Knie re (ohne Partikel)
	2	Milz	2 Milz
	3	Leber	3 Leber
	4	Niere	4 Niere
	5	Lunge	5 Lunge

3.6. Vorbereitung der Versuche

3.6.1. Narkose

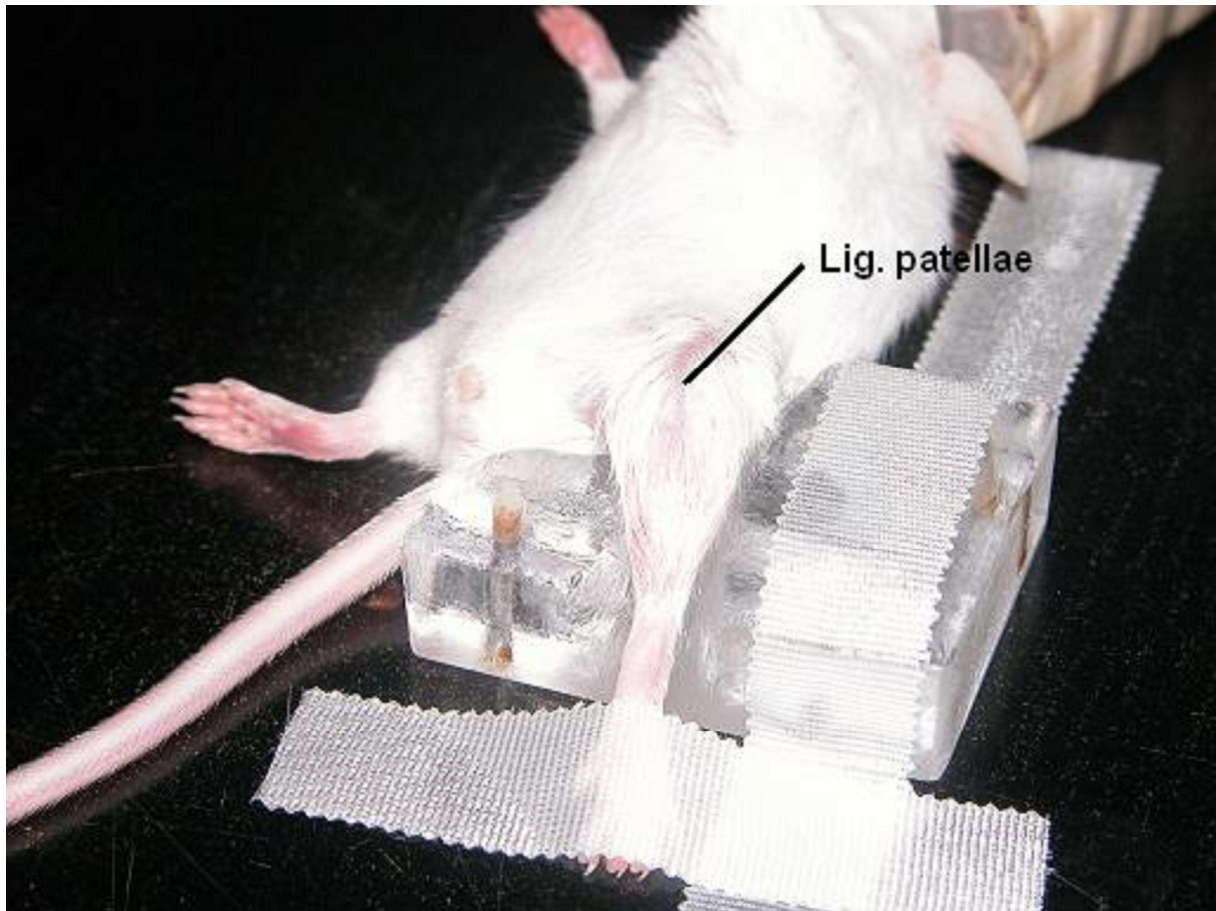
Partikelinjektion, die mikrochirurgische Präparation und die Intravitalmikroskopie wurden unter einer Isofluran-Inhalationsnarkose durchgeführt. Das Inhalationsgas setzte sich aus 35% Sauerstoff und 1,2% Isofluran zusammen. Als weiteres Narkosegas wurde Stickoxydul (Lachgas) zugeführt. Das Verdampfen des Isoflurans erfolgte in einem Vapor. Die Augen der Mäuse wurden während der Narkose mittels einer handelsüblichen Fett-Creme vor dem Austrocknen geschützt.

3.6.2. Partikelinjektion

Vor der Partikelinjektion wurden diese in einem versiegeltem Röhrchen 20 Minuten in einem mit destilliertem Wasser befüllten Ultraschallbad suspendiert, um eine optimale Verteilung der Mikropartikel im Lösungsmittel zu gewährleisten und eine Aggregation der Partikel zu vermeiden.

Zur intraartikulären Partikelapplikation ins linke Knie wurden die Mäuse unter einer Isofluran-Kurzarkose auf einer Heizplatte mit dem linken Bein auf einem speziellen Kunststoffblock in leichter Knieflexion mit Klebestreifen fixiert, um ein möglichst schonendes Punktieren der Kniegelenkscapsel mit Hilfe eines Operationsmikroskopes zu ermöglichen. Nach Desinfektion des linken Beines mit einem kliniküblichen Hautdesinfektionsmittel und Wegstreichen des Felles wurde der Kniegelenksspalt punktiert. Hierzu diente eine Mikrokanüle (gauge 33) als Punktionsnadel. Dabei wurde bei leicht gebeugtem Knie von anterior durch das Lig. patellae der sich dahinter befindliche Kniegelenksspalt punktiert. Mittels einer Insulinspritze wurden 50 µl der oben genannten entsprechenden Partikelsuspensionen, bzw. 50 µl steriles PBS bei der Kontrollgruppe, in das linke Knie eingebracht. Eine Kontrolle der korrekten Applikation der Flüssigkeit erfolgte durch Palpation der nun prall gefüllten Gelenkscapsel.

Abbildung 3-4: Narkotisierte Balb/C-Maus in Lagerung auf Plexiglassblock in Knieflexion. Nach Desinfektion und Wegstreichen des Felles ist das Lig. patellae erkennbar. Von anterior erfolgt durch das Ligament die Punktion des Kniegelenks.



3.6.3. Venöser Katheter und intraoperative Überwachung

Das Freipräparieren der Gefäße am proximalen Drittel des Mäuseschwanzes erlaubte das Applizieren eines arteriellen Katheters, welcher mittels eines Druckwandlers eine kontinuierliche Blutdrucküberwachung ermöglichte.

An einer der Schwanzvenen wurde unter Zuhilfenahme eines Polyethylen-Schlauches und zweier Insulinnadeln ein venöser Verweilkatheter gelegt. Dieser diente der intravenösen Injektion der Fluoreszenzfarbstoffe.

3.6.4. Mikrochirurgische Präparation

An Tag 8 nach Partikelinjektion erfolgte die mikrochirurgische Präparation der Synovialmembran zur Durchführung der intravitalmikroskopischen Untersuchung. Nach Vorbereitung des intraoperativen Monitorings und der Zugänge wurde das Versuchstier mittels Klebestreifen auf der Heizplatte fixiert. Dabei wurde das linke Bein auf dem bereits oben beschriebenen Kunststoffblock in ca. 45° Knieflexion gelagert.

Nach sorgfältiger Desinfektion wurde ein Hautschnitt von der Pfote bis zur Hälfte des Oberschenkels longitudinal über das Knie gesetzt. Das Lig. patellae wurde stumpf freipräpariert. Nach Sondieren des Ansatzes des Ligaments am Tibiakopf wurde das Ligament ansatznah mit einer Schere durchtrennt, mobilisiert und nach proximal umgeklappt. Damit kam der retropatelläre Raum inklusive Hoffa´scher Fettkörper zum Vorschein und ermöglichte eine Untersuchung der synovialen Mikrozirkulation mittels Intravitalmikroskopie.

Abbildung 3-5: Kniegelenk vor und nach Durchtrennen des Lig. Patellae. Unter dem Lig. Patellae kommt der Hoffa´sche Fettkörper zum Vorschein



Zur Vorbereitung der intravitalmikroskopischen Untersuchung wurde ein Deckglas auf ein medial und ein lateral des Kniegelenkes aufgetragenen Silikontropfen gelegt. Das Deckglas sollte möglichst eng am Kniesitus anliegen. Das Unterspritzen des Deckglases mit isotonischer Kochsalzlösung und ein Tropfen Kochsalzlösung auf

dem Deckglas erlaubten das Auflegen des Immersionsobjektivs des Auflichtmikroskops.

3.6.5. Tötung der Mäuse

Nach Abschluss der intravitalmikroskopischen Untersuchungen wurden die oben genannten Monitoring-Systeme sowie die Verweilkatheter am Schwanz entfernt. Unter fortlaufender Narkose wurde zur Blutentnahme eine Herzpunktion in Rückenlage mittels einer Heparin-benetzten Insulinspritze durchgeführt. Das Blutplasma wurde für arbeitsgruppeninterne fortführende Versuche aufbewahrt. Anschließend erfolgte die Tötung des Tieres durch die intrakardiale Injektion einer tödlichen Dosis Pentobarbital (200-400mg/kg Körpergewicht)

3.7. *Intravitalmikroskopie*

3.7.1. Das Fluoreszenz-Intravitalmikroskop

Für die intravitalmikroskopischen Aufnahmen der synovialen Mikrozirkulation wurde ein Auflichtmikroskop Axiotech Vario der Firma Zeiss in Kombination mit dem bereits oben genannten Immersionsobjektiv benutzt. Als Lichtquelle diente eine dafür vorgesehene separate Lampe. Zur Datenerhebung wurden die intravitalmikroskopischen Untersuchungen mittels einer Kamera gefilmt und auf Videokassetten aufgezeichnet. Zusätzlich wurden das Aufnahmedatum und die Uhrzeit eingespielt.

Zur Kontrastierung wurden die Fluoreszenzfarbstoffe Rhodamin G6 und Fluorescein-isothiocyanat-dextran (FITC-Dextran) intravenös mit Hilfe des Verweilkatheters appliziert. Hierbei wurde ein Bandpaßfilter mit grünem Anregungsbereich für die mit Rhodamin G6 kontrastierten Aufnahmen sowie ein Filter mit blauem Anregungsbereich für die mit FITC-Dextran kontrastierten Aufnahmen benutzt.

3.7.2. Leukozytenfärbung

Die Färbung der Leukozyten erfolgte mit dem Farbstoff Rhodamin G6, der in vorbereiteter Konzentration (0,05% in 0,9%NaCl) in versuchsgerechten Mengen bei -20°C aufbewahrt wurde. Über den oben beschriebenen venösen Zugang erfolgte die intravenöse Applikation von 0,15mg/kg Körpergewicht (38;97) des auf Körpertemperatur erwärmten Farbstoffes unter bereits vorbereiteten Messinstrumenten. Nach etwa 10 Sekunden lag unter Benutzung des Bandpaßfilters mit grünem Anregungsbereich eine optimale Anfärbung der Leukozyten zur Durchführung der unten beschriebenen Messungen der mikrozirkulatorischen Parameter sowie der Leukozyten-Endothelzell-Interaktion vor. Bei abnehmender oder unzureichender Kontrastierung war eine wiederholte Gabe von Rhodamin 15 Minuten nach der ersten Verabreichung notwendig. (97)

3.7.3. Plasmafärbung

FITC-Dextran diente zur Kontrastierung des Plasmas zur unten beschriebenen Messung der funktionellen Kapillardichte. Der Farbstoff wurde ebenfalls in versuchsgerechten Mengen in vorbereiteter Konzentration und Applikationsform (5% in 0,9% NaCl) bei -20°C aufbewahrt und vor intravenöser Gabe auf Körpertemperatur erwärmt. Zur Anfärbung wurde FITC-Dextran in einer Menge von 15mg/kg Körpergewicht als Bolus intravenös verabreicht. Durch Benutzung des Bandpaßfilters mit blauem Anregungsbereich war bei der oben genannten Farbstoffapplikation eine für die folgenden Messungen ausreichende Kontrastierung des Plasmas und des synovialen Kapillargeflechtes gewährleistet.

3.8. Datenerhebung

3.8.1. Videoaufnahmen und Messungen

Unter Rhodamin-Kontrastierung wurden drei Aufnahmen zu je 30 Sekunden von postkapillären Venolen gemacht. Diese dienten sowohl der Messung der Leukozyten-Endothelzell-Interaktion, als auch der Bestimmung mikrozirkulatorischer Parameter. Drei weitere Aufnahmen von Kapillarzonen zu je 30 Sekunden unter FITC-Dextran-Kontrastierung wurden zur Bestimmung der funktionellen Kapillardichte benötigt. Zur Auswertung der halbminütigen Videosequenzen diente bei allen im Folgenden beschriebenen Messungen das Computerprogramm CapImage™.

3.8.2. Mikrozirkulatorische Parameter

Als mikrozirkulatorische Parameter wurden der Gefäßdurchmesser in μm und die Fließgeschwindigkeit des Blutes in mm/s gemessen. Weiterhin wurde neben dem Durchmesser die Länge des zu beobachtenden Gefäßes bestimmt, da dieser Wert für die Bestimmung der unten beschriebenen Leukozyten-Endothelzell-Interaktion benötigt wurde.

Als Durchmesser wurde der Abstand zweier paralleler Gefäßwände des zu untersuchenden Gefäßes an sechs Punkten gemessen und als Mittelwert angegeben.

Zur Bestimmung der Fließgeschwindigkeit im beobachteten Gefäß wurde die Geschwindigkeit der in der Gefäßmitte fließenden Erythrozyten herangezogen, welche durch das Programm CapImage™ errechnet wurde.

3.8.3. Leukozyten-Endothelzell-Interaktion

Als Parameter der Leukozyten-Endothelzell-Interaktion wurden die Fraktion rollender Leukozyten und die Zahl adhärenter Zellen bestimmt.

Die unterschiedlichen Formen der Leukozyten-Endothelzellinteraktion wurden wie folgt definiert (37-39;92;93):

- Rollende Leukozyten: Alle Leukozyten, die über den gesamten Beobachtungszeitraum (30s) intermittierend mit dem Gefäßendothel Kontakt haben und sich deutlich langsamer als der Blutstrom am Gefäßendothel „rollend“ bewegen.
- Nicht adhärenente Zellen: Alle Leukozyten, die über den gesamten Beobachtungszeitraum das Gefäß ohne Endothelkontakt durchfließen. Die Geschwindigkeit entspricht annähernd der gemessenen Fließgeschwindigkeit.
- Adhärenente Leukozyten: Alle Leukozyten, die über den ganzen Beobachtungszeitraum permanenten Kontakt mit dem Gefäßendothel behalten und sich nicht am Endothel fortbewegen.
- Fraktion rollender Leukozyten: Quotient aus der Zahl der rollenden Leukozyten und der Summe aller passierenden Leukozyten .

(Fraktion rollender Leukozyten = Zahl rollender Leukozyten / Zahl rollender + nicht adhärenter Zellen)

Die Zahl adhärenter Zellen ist die Menge der gezählten adhärenenten Leukozyten bezogen auf die Endotheloberfläche des betrachteten Gefäßes, angegeben in Zellen/mm². Sie errechnet sich wie folgt:

Zahl adhärenter Zellen = adhärenente Zellen / (d x π x L)

Zeichenerklärung: d = Gefäßdurchmesser (μ m)
 π = Kreiskonstante (3,14)
 L = Gefäßlänge (μ m)

3.8.4. Funktionelle Kapillardichte

Zur Messung der funktionellen Kapillardichte wurden die mit FITC-Dextran kontrastierten Aufnahmen genutzt. Durch die intensive Kontrastierung sind perfundierte Kapillaren deutlich vom umliegenden Gewebe abgrenzbar.

Die funktionelle Kapillardichte errechnet sich aus der Länge der perfundierten Kapillaren bezogen auf die Fläche des betrachteten Gewebeabschnittes, angegeben in cm/cm².

3.9. *Histologische Untersuchung*

3.9.1. Präparatentnahme und Fixierung

Nach der Tötung der Mäuse erfolgte innerhalb eines Zeitraumes von maximal zwanzig Minuten post mortem die Präparatentnahme zur histologischen Aufarbeitung des linkes Knies. Dabei wurden, nach der Desinfektion des Mäusekörpers mit Ethanol 70% unter einer Sterilwerkbank nach Entfernung des Fells, Femur und Tibia auf jeweils halber Länge mit einem Skalpell durchtrennt. Die umliegende Muskulatur wurde vorsichtig entfernt, ohne den Kapsel-Band-Apparat des Kniegelenkes zu verletzen.

Das Präparat wurde anschließend 24 Stunden in Formalin fixiert. Nach Abgießen des Formalins erfolgte das Entkalken des Präparats in EDTA für 7 Tage. Danach wurden die Präparate bis zur weiterführenden Verarbeitung in 70%igem Ethanol konserviert. Das Entwässern der Präparate erfolgte in einem automatischen Entwässerungsapparat mit anschließendem Einbetten der Präparate in Paraffin in Paraffinkassetten mit einer Gießstation nach folgendem Schema:

	Temp °C	Vac.:	Immersion (min)	Drain (min):
Alkohol 70 %	22	J	2:00	1:00
Alkohol 70 %	22	J	1:00	1:00
Alkohol 96%	22	J	1:00	1:00
Alkohol 96%	22	J	1:00	1:00
Alkohol 96%	22	J	1:00	1:00
Alkohol 100%	22	J	1:00	1:00
Alkohol 100%	22	J	1:00	1:00
Alkohol 100%	22	J	1:00	1:20
Rotihistol	22	J	1:30	1:00
Rotihistol	22	J	1:30	1:20
Paraffin	60	J	1:30	1:20
Paraffin	60	J	1:30	1:20

Mit einem Paraffinmikrotom wurden die Paraffinblöcke in 3 µm dicke sagittale Schnitte des Knies geschnitten, in einem Wasserbad auf Objektträger gelegt und in einem Trockenschrank bei 60°C für 20 Minuten getrocknet.

Weiterhin wurden bei der oben beschriebenen Präparatentnahme das nicht manipulierte rechte Knie, sowie Leber, Lunge, Milz und Nieren zu weiterführenden immunhistochemischen und molekulargenetischen Untersuchungen innerhalb der Arbeitsgruppe entnommen.

3.9.2. Färbung der histologischen Schnitte

Aus den Schnittserien der Präparate wurden acht bis zehn Schnitte von unterschiedlichen sagittalen Ebenen des Knies entnommen und anschließend nach dem folgenden Schema entparaffinisiert und Hämalaun-Eosin (H.E.)-gefärbt.

Xylol	3 min
Xylol	3 min
Xylol	3 min
Ethanol 100% (PE)	5 min
Ethanol 70%	5 min
Ethanol 40%	5 min
Aqua dest	kurz
Hämalaun n. Meyer	5 min
Leitungswasser	1 min spülen
Eosin	2 min
Ethanol 70%	kurz differenzieren
Ethanol 80%	2 min
Ethanol 100% (PE)	2 min
Xylol	5 min
Xylol	5 min

Anschließend wurden die gefärbten Präparate mit einem Deckglas versehen.

3.9.3. Auswertung der Präparate

Drei pro Maus ausgesuchte histologische Schnitte wurden mit Hilfe eines Mikroskops untersucht und mit einer Digitalkamera unter 400facher Vergrößerung fotografiert. Ein Computerprogramm zur digitalen Bildanalyse ermöglichte das Vermessen des Synovialmembrangewebes in den Sagittalschnitten der Knie. Dazu wurde an sechs

definierten Punkten des Knies in der Sagittalebene die Dicke der Synovialmembran vermessen. Bei den festgelegten Messpunkten handelte es sich um vier Messungen an der ventralen Kapsel und zwei Messungen an der dorsalen Kapsel.

Die zu messende Synovialmembrandicke wurde als Synovialzellschicht inklusive der synovialen Bindegewebsanteile definiert. Perikapsuläres Fett- oder Muskelgewebe wurde nicht mitgemessen.

An jedem der sechs definierten Messpunkte pro Schnittpräparat erfolgten drei Messungen der Synovialmembrandicke. Pro Präparat ergaben sich somit 18 Messwerte, aus denen ein mausspezifischer Mittelwert der Synovialmembrandicke berechnet wurde.

Die qualitative Untersuchung der histologischen Präparate erfolgte unter dem Gesichtspunkt des Entzündungsmaßes. Um dies zu erfassen, wurden die Schnitte im Hinblick auf Synovialzellproliferation und leukozytäre Infiltrate untersucht. Zum Erfassen der vorliegenden Gelenkentzündung wurde der von Brackertz et al. vorgestellte Score zur Graduierung entzündlicher Prozesse im Kniegelenk im Modell der antigen-induzierten Arthritis der Maus benutzt (98).

Dieser Score ermittelt sich wie folgt (98):

- 0 - normales Kniegelenk
- 1 - unauffällige Synovia mit vereinzelt mononukleären Zellen
- 2 - zwei- oder dreilagiges Synovium mit flachen bis runden Zellen und diffusem mononukleärem Infiltrat (definitive Arthritis)
- 3 - deutliche Hyperplasie der Synovia mit drei- oder mehrlagigen, locker angeordneten Zellen und dichtem Infiltrat mononukleärer Zellen
- 4 - starke Synovitis mit Pannusbildung und Destruktionen des artikulären Knorpels und subchondralen Knochens

3.10. Verwendetes Material

Balb-C-Mäuse (Charles-River-Wiga, Sulzfeld, Deutschland)
Trockenfutter (ssniff Standarddiät für Ratten und Mäuse, sniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Deutschland)
Isofluran (Forene, Abbott GmbH, Wiesbaden, Deutschland)
Vapor (Dräger, Lübeck, Deutschland)
Fett-Creme (Augen-und Nasencreme, Bayer, Leverkusen, Deutschland)
Ultraschallbad (Sonorex Super RK 510H, Bondelin electronic, Berlin, Deutschland)
Heizplatte (Fa. Effenberger, München, Deutschland)
Klebestreifen (BDF AG, Hamburg, Deutschland)
Operationsmikroskop (Fa. Wild, Heerbrugg, Schweiz)
Hautdesinfektionsmittel (Cutasept, Bode Chemie, Hamburg, Deutschland)
Mikrokanüle (gauge 33) der Fa. Fine Science Tools GmbH (Heidelberg, Deutschland)
Insulinspritzen (1ml/40E, Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland)
Temperatursonde (Hugo Sachs Elektronik, March, Deutschland)
Katheterschlauch (Fa. Portex, Kent, England)
Druckwandler (Druck-Transducer, Sirecust 300D, Siemens, Deutschland)
Polyethylen-Schlauches (PE-Tubing 0,4mm/0,8mm, Fa. Portex, Kent, England)
Insulinnadeln (Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland)
Deckglas (Menzel GmbH, Braunschweig, Deutschland)
Silikontropfen (Baysilone Paste mittelviskös, Bayer AG, Leverkusen, Deutschland)
isotonische Kochsalzlösung (Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland)
Immersionsobjektiv Archoplan 20x/0,5W (Fa. Zeiss, Oberkochen, Deutschland)
(Heparin-Natrium 25.000 I.E./5ml Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland)
Pentobarbital / Eutha77 (Veterinaria AG, Pfäffikon, Schweiz)
Auflichtmikroskop Axiotech Vario (Firma Zeiss, Oberkochen, Deutschland)
Lampe HBO 100 AttoArc (Fa. Zeiss)
Videokamera (FK 6990 IQ-S, Fa. Piper, Schwerte, Deutschland)
Videorecorder (S-VHS Videorecorder SVO-9500 MDP, Sony GmbH, Köln, Deutschland)
Videokassetten (KCA-180min, Sony GmbH, Köln, Deutschland)

Videozeitgenerator (VT 633, Fora Company Ltd, Tokio, Japan)

Bandpaßfilter grün, Anregungsbereich: grün (Fa. Zeiss, Oberkochen, Deutschland)

Bandpaßfilter blau, Anregungsbereich: blau (Fa. Zeiss, Oberkochen, Deutschland)

Rhodamin G6 (Sigma Aldrich, Steinheim, Deutschland)

FITC-Dextran (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland)

CapImage™ (Dr. Zeintl Ingenieurbüro, Heidelberg, Deutschland)

Sterilwerkbank (Heraeus, Hanau, Deutschland)

Skalpelle (Feather/ pfm, Köln, Deutschland)

Formalin (Formalin 4%, PBS-gepuffert, ph=7, Apotheke Innenstadt Uni-München, Deutschland)

EDTA (EDTA 4% Zitronensäure pH=7,1, Apotheke Innenstadt Uni-München, Deutschland)

Entwässerungsapparat (Leica, Schalksmühl, Deutschland)

Paraffinkassetten (Tissue Tek uni cassette, Sakura, Heppenheim)

Gießstation (Leica, Schalksmühl, Deutschland)

Paraffinmikrotom (Jung AG, Heidelberg, Deutschland)

Mikrotomklingen (pfm, Köln, Deutschland)

Objektträger (Super Frost plus, Menzel GmbH, Braunschweig, Deutschland)

Wasserbad (Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel, Deutschland)

Trockenschrank (UNE 200PA, Memmert GmbH & CoKG, Schwabach, Deutschland)

Xylol (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)

Ethanol unterschiedlicher Konzentrationen (Carl Roth GmbH&CoKG, Karlsruhe, Deutschland)

Ethanol 100% Petrolether-vergällt (Carl Roth GmbH&CoKG, Karlsruhe, Deutschland)

Hämalaun n. Meyer (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland)

Eosin (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland)

Eukitt (O.Kindler GmbH, Freiburg, Deutschland)

Deckgläser (Menzel GmbH, Braunschweig, Deutschland)

Aqua dest. (Carl Roth GmbH&CoKG, Karlsruhe, Deutschland)

Paraffin (Carl Roth GmbH&CoKG, Karlsruhe, Deutschland)

Rotihistol (Carl Roth GmbH&CoKG, Karlsruhe, Deutschland)

Mikroskop (Olympus BX 41, Olympus GmbH, Hamburg, Deutschland)

Digitalkamera (Olympus Camedia c-5060, Olympus GmbH, Hamburg, Deutschland)

Computerprogramm zur digitalen Bildanalyse (Olympus DP Soft, Olympus GmbH, Hamburg)

Computerprogramm SigmaStat™ (Systat Software GmbH, Deutschland).

Computerprogramm Prism™ (Prism, GraphPad Software Inc., USA).

3.11. Statistik

Ziel war es, paarweise Vergleiche zwischen einer UHMWPE-Gruppe, einer CFR-PEEK-pitch-, einer CFR-PEEK-PAN-Gruppe, und einer Kontrollgruppe durchzuführen, d.h. insgesamt zwischen vier Gruppen sechs paarweise Gruppenvergleiche zu ziehen.

Die bei der Datenerhebung gewonnenen Messwerte der mikrozirkulatorischen Parameter (Gefäßdurchmesser, Fließgeschwindigkeit), der Leukozyten-Endothelzell-Interaktion und der funktionellen Kapillardichte wurden als Mittelwerte mit Standardfehler pro Maus erfasst. Bei jeder Versuchsgruppe wurde für alle erfassten Parameter der Mittelwert (MW) mit Standardfehler (SEM = standard error of the mean) errechnet, bei dem histopathologischen Score wurde der Median ermittelt. Zur statistischen Analyse der Versuchsergebnisse diente das Statistikprogramm SigmaStat™.

Nach Überprüfung auf Normalverteilung wurden zur statistischen Analyse eine Kruskal-Wallis-Analyse und zusätzlich multiple paarweise Vergleiche der Versuchsgruppen mit einem Student-Newman-Keuls-Test durchgeführt. Als Signifikanzniveau wurde $p < 0,05$ definiert.

4. Ergebnisse

Es konnten jeweils acht Tiere pro Versuchsgruppe ausgewertet werden. Zur graphischen Darstellung der Ergebnisse diente das Computerprogramm Prism™

4.1. *Mikrozirkulatorische Parameter, Gewicht und Kniegelenksdurchmesser*

Die Erhebung der mikrozirkulatorischen Parameter im Rahmen der intravitalmikroskopischen Untersuchungen, sowie die Messung von Gewicht und Kniegelenksdurchmesser vor und nach dem Versuch ergaben folgende Werte in den Versuchsgruppen einschließlich der Kontrollgruppe. (siehe Tabelle 4-A)

Tabelle 4-A: Mikrozirkulatorische Parameter, Gewicht und Kniegelenksdurchmesser

Parameter	Kontrolle (PBS) n=8	UHMWPE n=8	CFR-PITCH n=8	CFR-PAN n=8
Gefäßdurchmesser (μm)	19 \pm 1	18 \pm 2	20 \pm 1	20 \pm 1
Fließgeschwindigkeit (mm/s)	0,28 \pm 0,02	0,29 \pm 0,04	0,31 \pm 0,06	0,34 \pm 0,04

(Anmerkung: Alle Werte angeben als Mittelwert \pm Standardfehler)

Parameter	Kontrolle (PBS) n=8	UHMWPE n=8	CFR- PITCH n=8	CFR-PAN n=8
Gewicht Tag 1	20,8g \pm 0,77	22,8g \pm 0,59	20,8g \pm 0,39	19,3g \pm 0,35
Gewicht Tag 8	21,4g \pm 0,52	23,2g \pm 0,62	21,7g \pm 0,32	20,4g \pm 0,26
Kniegelenksdurchmesser Tag 1	4,1mm \pm 0,03	4,1mm \pm 0,04	4,1mm \pm 0,04	4mm \pm 0,04
Kniegelenksdurchmesser Tag 8	4,2mm \pm 0,03	4,2mm \pm 0,04	4,1mm \pm 0,03	4,1mm \pm 0,04

(Anmerkung: Alle Werte angeben als Mittelwert \pm Standardfehler)

4.2. Leukozyten-Endothelzell-Interaktion

4.2.1. Fraktion rollender Leukozyten

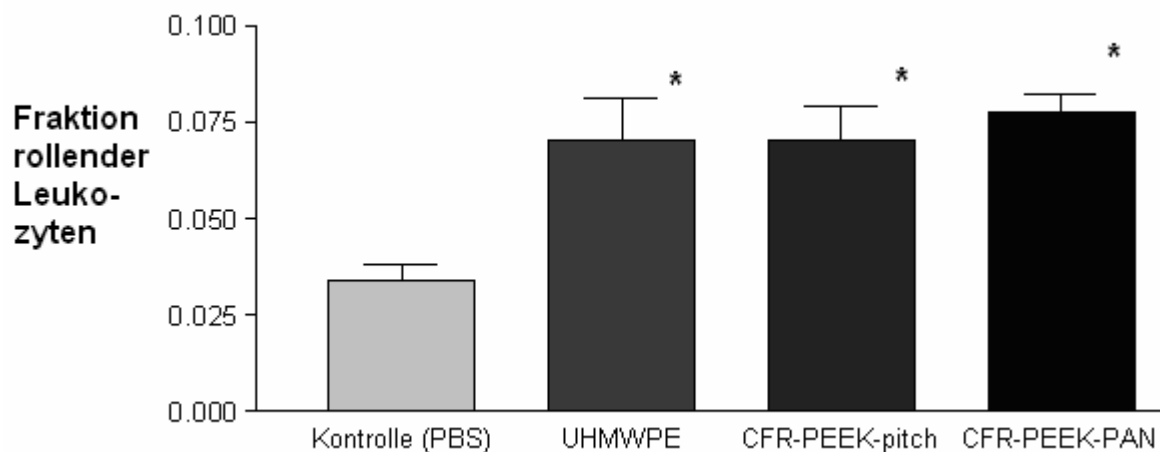
Die Berechnung der Fraktion rollender Leukozyten ergab folgende Ergebnisse:

Die UHMWPE-Versuchsgruppe wies einen Mittelwert von $0,07 \pm 0,01$ (MW/SEM) auf. Damit unterschied sich UHMWPE signifikant von der Kontrollgruppe ($0,03 \pm 0,004$ MW/SEM; $p < 0,05$).

CFR-PITCH unterschied sich ebenfalls mit einem Wert von $0,07 \pm 0,01$ (MW/SEM; $p < 0,05$), genauso wie CFR-PEEK-PAN ($0,08 \pm 0,005$ MW/SEM; $p < 0,05$) signifikant von der Kontrollgruppe. Zwischen UHMWPE, CFR-PEEK-pitch und CFR-PEEK-PAN war in Hinblick auf die Fraktion rollender Leukozyten kein signifikanter Unterschied ersichtlich ($p > 0,05$). (siehe Abbildung 4-1)

Abbildung 4-1: Fraktion rollender Leukozyten:

* vs. Kontrolle: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$)

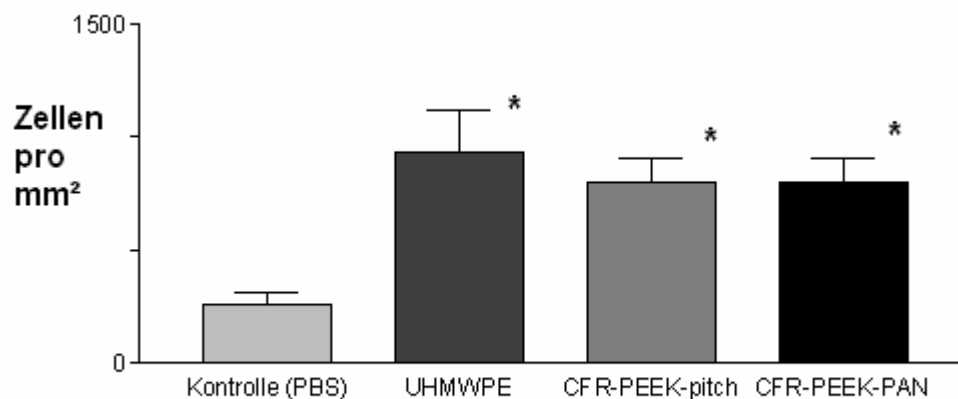


4.2.2. Zahl adhärenter Zellen

Die Zahl adhärenter Zellen unterschied sich bei allen drei Materialien signifikant von der Kontrollgruppe (256,1±52,24 Zellen/mm²). UHMWPE wies einen Wert von 933,0±182,1 Zellen/mm² (p=0,001), CFR-PEEK-pitch einen Wert von 795,1±110,6 Zellen/mm² (p=0,002) und CFR-PEEK-PAN einen Wert von 800,5±109,4 Zellen/mm² (p=0,004) auf. Ein signifikanter Unterschied zwischen UHMWPE, CFR-PEEK-pitch und CFR-PEEK-PAN war nicht festzustellen (p>0,05). (siehe Abbildung 4-2)

Abbildung 4-2: Zahl adhärenter Zellen (Zellen/mm²)

* vs. Kontrolle: signifikanter Unterschied (p<0,05)

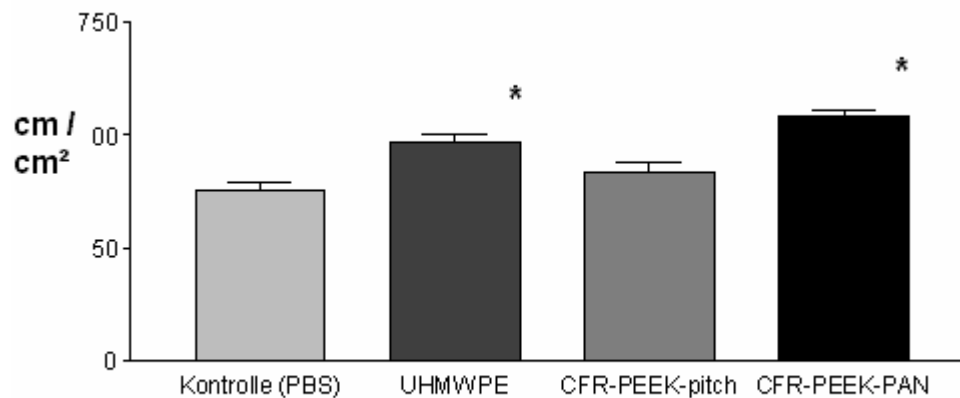


4.3. Funktionelle Kapillardichte

Die Messung der funktionellen Kapillardichte ergab folgende Ergebnisse (die Messwerte sind angegeben in cm/cm^2): UHMWPE ($485,7 \pm 16,90$; $p < 0,001$) unterschied sich genauso wie CFR-PEEK-PAN ($543,7 \pm 9,623$; $p < 0,001$) signifikant von der Kontrollgruppe ($378,5 \pm 14,66$). Keine Signifikanz zeigte jedoch der Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und CFR-PITCH ($418,9 \pm 20,72$; $p = 0,085$). Die Vergleiche zwischen UHMWPE und CFR-PEEK-PAN ($p = 0,016$) sowie zwischen UHMWPE und CFR-PEEK-pitch ($p = 0,006$) ergaben signifikante Unterschiede. Als signifikant stellte sich ebenfalls der Vergleich zwischen CFR-PEEK-pitch und CFR-PEEK-PAN heraus ($p < 0,001$). (siehe Abbildung 4-3)

Abbildung 4-3: Funktionelle Kapillardichte (cm/cm^2)

* vs. Kontrolle: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$)



4.4. Histopathologischer Score und Synovialmembrandicke

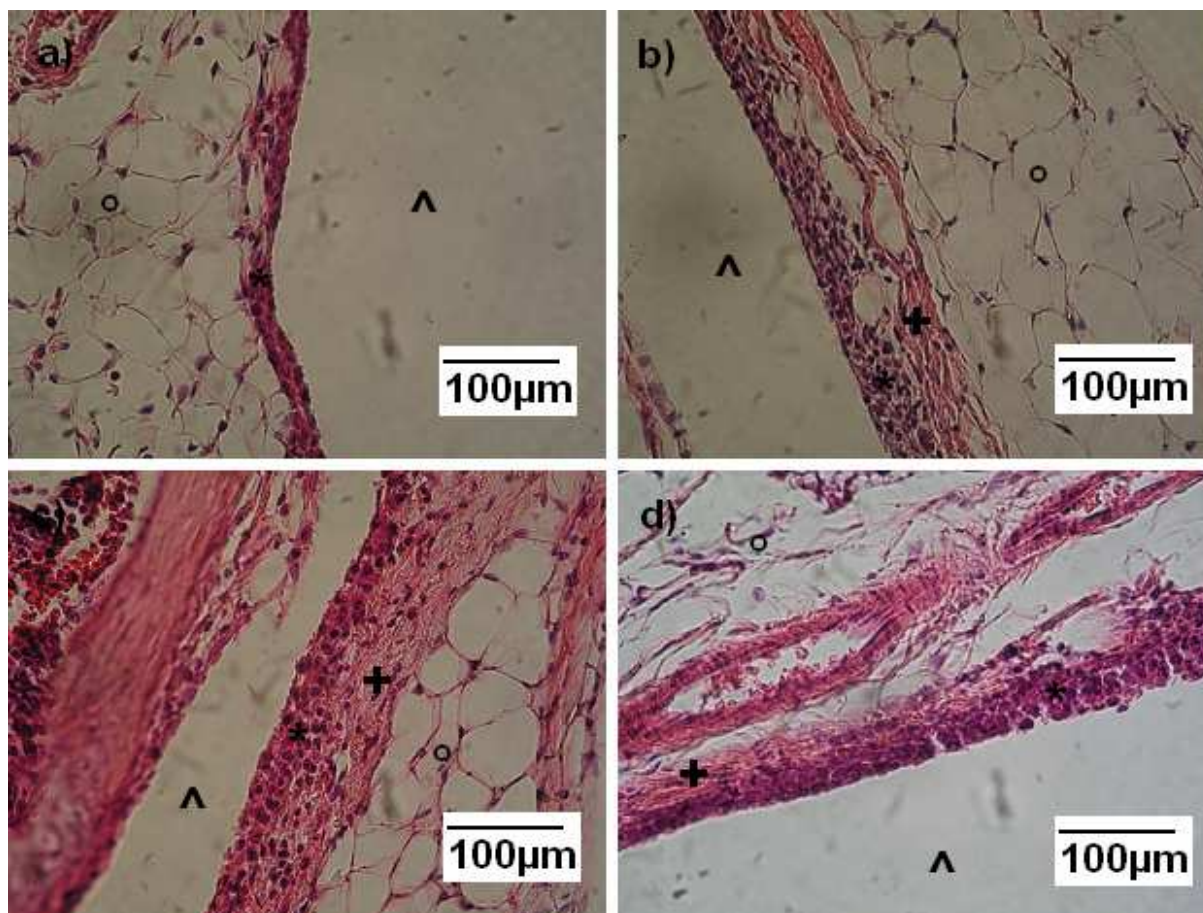
Die Messungen der Synovialdicke sowie die Ergebnisse der histopathologischen Befundung sind in den folgenden Abbildungen dargestellt. (siehe Abbildungen 4-4 und 4-5)

Abbildung 4-4: Histologische Schnitte der Kniegelenksynovia, HE-Färbung, 400x-Vergrößerung
Quelle: (99)

a) Kontrolle (PBS) b) UHMWPE c) CFR-PEEK-pitch d) CFR-PEEK-PAN

^ Gelenkspalt, * Synovialzellen, + kapsuläres Bindegewebe, ° perikapsuläres Fettgewebe

Zu erkennen ist die Proliferation der Synovialmembran bei den drei Versuchsgruppen (UHMWPE, CFR-PEEK-pitch, CFR-PEEK-PAN), verglichen mit der Kontrollgruppe. Weiterhin weisen diese Versuchsgruppen entzündliche Infiltrate auf, welche in diesem Ausmaß bei der Kontrollgruppe nicht vorzufinden sind.

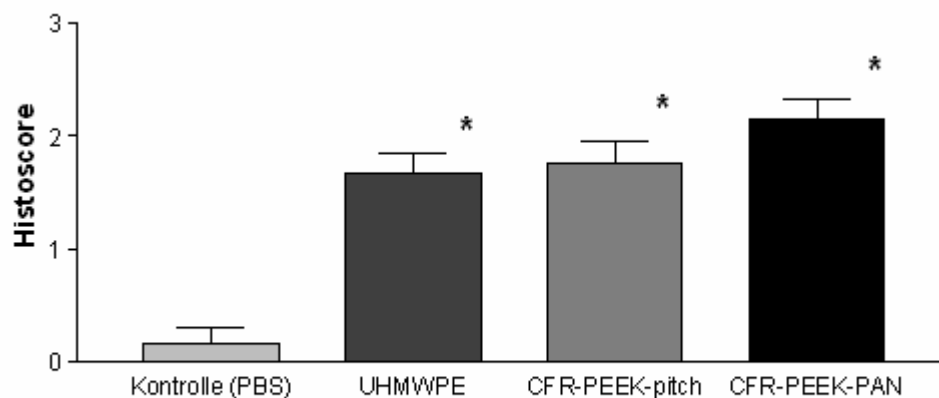


4.4.1. Histopathologischer Score

Die quantitative Messung der entzündlichen Aktivität mit Hilfe des histopathologischen Scores (angegeben als Median) ergab einen signifikanten Unterschied der Versuchsgruppen UHMWPE (1,7), CFR-PEEK-pitch (1,7) und CFR-PEEK-PAN (2,2) verglichen mit der Kontrollgruppe (0) ($p < 0,05$). Ein Vergleich der drei Versuchsgruppen untereinander ergab jedoch keinerlei Signifikanz ($p > 0,05$). (siehe Abbildung 4-5)

Abbildung 4-5: Histopathologischer Score (angegeben als Median)

* vs. Kontrolle: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$)

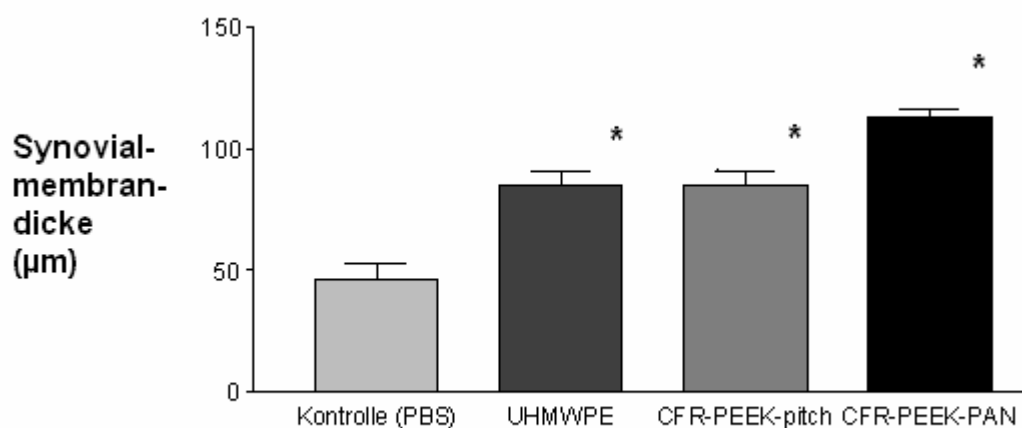


4.4.2. Synovialmembrandicke

Die Messung der Synovialmembrandicke in allen vier Gruppen und die statistische Analyse der Werte ergab folgende Ergebnisse: Die Messergebnisse der Synovialmembrandicke von UHMWPE ($85\pm 5\mu\text{m}$; $p < 0,001$), CFR-PEEK-pitch ($85\pm 6\mu\text{m}$; $p < 0,001$), sowie von CFR-PEEK-PAN ($113\pm 3\mu\text{m}$; $p < 0,001$) unterschieden sich in der statistischen Analyse signifikant von der Kontrollgruppe ($46\pm 6\mu\text{m}$). Ebenfalls signifikant gestalteten sich die Unterschiede zwischen CFR-PEEK-PAN und UHMWPE ($p < 0,001$) sowie zwischen CFR-PEEK-PAN und CFR-PEEK-pitch ($p = 0,002$). Beim Vergleich von CFR-PEEK-pitch und UHMWPE ergab sich kein signifikanter Unterschied ($p = 0,95$). (siehe Abbildung 4-6)

Abbildung 4-6: Synovialmembrandicke

* vs. Kontrolle: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$)



5. Diskussion

Die aseptische Prothesenlockerung stellt eine der häufigsten Langzeitkomplikationen der Gelenkendoprothetik dar und ist die häufigste Ursache für den späten Prothesenverlust. (15;23;26;27;30;100) Die Ätiologie dieses Prozesses wurde in den vergangenen Jahren intensiv erforscht.

Es wird eine Abriebpartikel-assoziierte Entzündungsreaktion des periprothetischen Gewebes vermutet. (23;39;101;102) Im Rahmen dieser entzündlichen Prozesse kommt es zu einer verstärkten Aktivierung von Osteoklasten, einem periprothetischen Knochenverlust und einer schwindenden knöchernen Verankerung der Prothese. (23;29;30;40;41)

Als Hauptursache dieser Vorgänge ist die Entstehung von Abriebpartikeln im Gelenk und im periprothetischen Raum zu betrachten. (15;23;29;37) Durch immunkompetente Zellen erfolgt die Induktion entzündlicher Mechanismen (23;27;32;103;104), deren Folge eine vermehrte Osteoklastenaktivität ist und damit zu periprothetischen Osteolysen führen. (23) Als Triggersubstanz in diesem Prozess ist das durch Verschleiß entstehende Abriebmaterial der Prothesengleitpaarung anerkannt. (15;23;29;36)

Neue Möglichkeiten in der Endoprothetik stellen carbonfaserverstärkte PEEK-Verbundwerkstoffe dar. Ob diese dem herkömmlichen Prothesenwerkstoff UHMWPE in ihren mechanischen Eigenschaften überlegen sind oder sogar die Widerstandsfähigkeit der Gleitpaarung verbessern könnten, ist derzeit Gegenstand vieler Studien. (49;55;73;74;78).

In dieser Studie soll untersucht werden, inwieweit sich biologische Reaktionen auf Faserverbundwerkstoffe, in diesem Fall zwei Modifikationen carbonfaserverstärkten Polyetheretherketons (CFR-PEEK-pitch und CFR-PEEK-PAN) von denen bei UHMWPE unter *in vivo*-Bedingungen unterscheiden.

Diskussion der Methodik

Zur Verwendung kam deshalb das bereits in der Literatur beschriebene Modell der murinen Kniegelenksynovialmembran. (37-39;92-94) Mit diesem Versuchsmodell ist es möglich, die biologische Aktivität intraartikulär applizierten Partikelmaterials anhand der synovialen Mikrozirkulation und Fremdkörperreaktion zu evaluieren. (37-39)

Das von Zysk et al. etablierte Modell bedient sich der Immunfluoreszenz-gestützten Intravitalmikroskopie der Synovialmembran. Diese ermöglicht die Untersuchung mikrozirkulatorischer Veränderungen, wie sie im Rahmen entzündlicher Prozesse auftreten und erlaubt einen Vergleich der biologischen Aktivität der zu untersuchenden Prothesenwerkstoffe *in vivo*. (37;37-39;90;91;105)

Neben dem in dieser Studie zur Verwendung gekommenen Modell sind in der Literatur eine Reihe anderer Versuchsmodelle zur Untersuchung des immunogenen Potentials von Endoprothesenwerkstoffen beschrieben.

Dabei handelt es sich zumeist um *in vitro*-Versuche, bei denen das zu untersuchende Abriebmaterial mit Makrophagen inkubiert wird. (32;45;106;107)

Die biologische Aktivität der Partikel wird anhand der, in das Medium freigesetzten Zytokine und Entzündungsmediatoren evaluiert. (32;33;50;108) Ein solches Modell erlaubt die Erforschung grundsätzlicher Einflussfaktoren und pathologischer Mechanismen, lässt jedoch keinerlei Untersuchung der Wirkungsweise dieser Materialien *in vivo* und *in situ* zu, da Wechselwirkungen mit anderen Zellen des Gewebes nicht berücksichtigt werden. (37;39;92)

Ein ebenfalls etabliertes *in vivo*-Modell stellt die Anlage eines subkutanen „air-pouches“ an einem Mäuse- oder Rattenrücken dar. (109;110) Hierbei werden pathologische Gewebereaktionen untersucht, die durch im air-pouch befindliche Mikropartikel hervorgerufen werden. (46;111) Zur Verwendung kommen dabei histopathologische Untersuchungen des Gewebes. (110;112;113) Der Vorteil dieses Verfahrens liegt neben den *in vivo*-Verhältnissen in der relativ einfachen Durchführbarkeit und Zugänglichkeit des Ortes der Partikelapplikation zu analytischen Zwecken. (113) Von Nachteil ist, dass die anatomischen Verhältnisse dieses künstlich erzeugten Hohlraums am Rücken nicht denen eines Gelenksitus

entsprechen und Auswirkungen auf die Knochenresorption nicht berücksichtigt werden können.

Daneben gibt es beschriebene Versuchsmodelle, die genau diese Knochenresorption berücksichtigen und quantifizieren lassen. (114-117)

Bei einfachen *in-vivo*-knochenresorptionsmodellen handelt es sich meist um Calvaria-Modelle. (116;117) Dabei erfolgt die Applikation von Abriebpartikeln subperiostal auf die Kortikalis der Calvaria von z.B. Mäusen. (114-119) Die biologischen Reaktionen des Abriebmaterials sowie die Knochenresorption am Schädelknochen werden durch histopathologische und immunhistochemische Untersuchungen des Gewebes bestimmt. (114;116)

Die Vorteile der Calvaria-Versuchsmodelle liegen in der einfachen Durchführbarkeit und guten Reproduzierbarkeit der Versuche. Gegenüber *in vitro*-Versuchen und air-pouch-Modellen werden bei diesem Modell die Auswirkungen auf die Knochenresorption berücksichtigt und Informationen über Knochenverlust unter Anwesenheit von Abriebpartikeln können gewonnen werden.

Von Nachteil ist wiederum die Tatsache, dass die Anatomie des Schädeldachs nicht der eines Gelenkes entspricht und Wechselwirkungen im Gelenksitus nicht berücksichtigt werden.

Aufwendige Knochenresorptionsmodelle umfassen meist Implantationen von Werkstoffen und Partikelinstillation intraartikulär oder intraossär z.B. bei Nagetieren. (117;120-122) Millet et al. beschreiben einen Versuch zur Untersuchung der Auswirkung von Bisphosphonaten auf partikel-induzierte Osteolysen bei Ratten. (120) Dabei erfolgt zum einen die Implantation eines Polyethylenimplantates gelenksnah in die proximale Tibia, zum anderen die kontinuierliche intraartikuläre Partikelapplikation. (116) Die Knochenresorption und pathologischen Veränderungen an der Knochen-Implantat-Grenze (s.g. Interface) werden durch histologische Untersuchungen und Bestimmung des periprothetischen Knochenverlustes bestimmt. (120) Die Knochenresorption kann hierbei durch radiologische Verfahren wie Mikro-CT-Untersuchungen quantifiziert werden. (121;122) Der Vorteil dieses Versuchsmodells liegt in der intraartikulären bzw intramedullären Applikation der Abriebpartikel. Damit ist es möglich, genau an diesem Gewebe die biologischen Reaktionen der Abriebpartikel zu untersuchen. Weiterhin berücksichtigt dieses Modell eine Knochen-Implantat-Grenzzone, der Ort an dem die Knochenresorptionen eine große Rolle bei der Lockerung von Implantaten spielen. (123) Ob die

Aussagekraft dieses Versuchsmodell durch die starken Manipulationen des Kniegelenkes beeinflusst wird, muss entsprechend diskutiert werden. Desweiteren ist die Präparation und Implantation aufwendig und zeitintensiv, was das Erreichen großer Fallzahlen erschwert.

Yang et al. beschreiben ein Versuchsmodell, welches neben der Analyse des periprothetischen Knochenverlustes auch dessen Auswirkungen auf die Verankerung eines Implantates im Knochen untersucht. (30) Dabei erfolgt bei Mäusen die Implantation eines Stahlpins in die proximale Tibia. Während des Versuches werden kontinuierlich Titanpartikel in das Kniegelenk injiziert. Zur Bestimmung der Knochenresorption an der Knochen-Implantat-Grenze werden Mikro-CT-Aufnahmen und histologische Untersuchungen der Interface-Membran an der Knochen-Implantat-Grenze nach Versuche (6 Wochen) durchgeführt. Die Verankerung des Implantates im Knochen wird mit Messung der zur Extraktion der Pins notwendigen Kraft bestimmt. (30) Dieses Versuchsmodell berücksichtigt neben den periprothetischen Osteolysen auch Veränderungen der Stärke der knöchernen Verankerung von Implantaten durch die Anwesenheit von Abriebpartikeln, wodurch es sich deutlich von den anderen bisher vorgestellten Modellen abhebt. Es bleibt jedoch offen, wie genau die Messungen der knöchernen Verankerung in diesem Versuch erfolgen können bzw. wie anfällig die Messergebnisse für Fehler bei der Implantation der Pins sind. Trotzdem ist dieses Modell sicherlich geeignet, partikel-induzierte Osteolysen zu analysieren und zu quantifizieren.

Für Versuche, bei denen Gelenkprothesen bei Versuchstieren implantiert werden sollen, sind größere Tiere notwendig. Die Implantation von Totalendoprothesen des Hüftgelenkes bei Kaninchen wird von Shanbhag et al. beschrieben. (124) Dabei werden außerdem UHMWPE-Abriebpartikel in den Knochen-Implantat-Spalt instilliert. Zur Messung der periprothetischen Knochenresorptionen kommen radiologische und histopathologische Untersuchungen zur Verwendung. Die Implantation von Totalendoprothesen bei Tieren als Versuchsmodell der aseptischen Prothesenlockerung ist mit einem sehr großen technischen und organisatorischen Aufwand verbunden. Zwar können Ursache, Mechanismus und das Ergebnis von periprothetischen Osteolysen in diesem Modell gut wiedergegeben werden, das Versuchsmodell erlaubt jedoch nicht die Untersuchung einzelner pathophysiologischer und pathobiochemischer Veränderungen in der Entstehung periprothetischer Osteolysen.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, die biologischen Reaktionen auf die oben vorgestellten Werkstoffe anhand eines *in vivo*-Modells zu untersuchen, welches die initialen Veränderungen des synovialen Gewebes auf das Vorliegen der Abriebpartikel untersucht. Das verwendete Mausmodell untersucht intravitalmikroskopisch Veränderungen der Leukozyten-Endothelzell-Interaktion sowie mikrozirkulatorischer Parameter der Synovialmembran in Folge intraartikulärer Partikelapplikation. Es erlaubt mit der Messung der Leukozyten-Endothelzellinteraktion die Quantifizierung entzündlicher Aktivität der Synovialmembran. (37-39;92;93) Eine Veränderung und Steigerung der Leukozytenauswanderung aus den postkapillären Venolen stellt einen essentiellen Mechanismus jeder entzündlichen Reaktionen dar. (44) Das Modell fokussiert die initialen entzündlichen Veränderungen des Synovialgewebes als Reaktion auf das Vorliegen von Abriebpartikeln. Diese Veränderungen wurden von Zysk et al. beschrieben. (37-39) Zysk et al. konnten mit Hilfe dieses Modells zeigen, dass in Folge intraartikulärer Partikelapplikation an Tag 8 die stärkste entzündliche Aktivität der Synovialmembran zu messen ist. (37)

Im weiteren Verlauf nahm die entzündliche Reaktion wieder kontinuierlich ab, was wiederum verdeutlicht, wie dynamisch sich die Reaktion des Organismus auf das Vorliegen von Abriebmaterial gestaltet. (37;39)

Bei den in dieser Studie intravitalmikroskopisch untersuchten mikrozirkulatorischen Parametern handelt es sich um die Bestimmung der Leukozyten-Endothelzell-Interaktionen in den synovialen Gefäßen sowie der funktionellen Kapillardichte der Synovialmembran. (38;93) Veihelmann et al. beschreiben die intravitalmikroskopische Untersuchung synovialer mikrozirkulatorischer Parameter und Blutzell-Endothel-Interaktionen als geeignetes Verfahren zur quantitativen Analyse akuter und chronischer entzündlicher Vorgänge im murinen Kniegelenk. (92;93)

Diese auch in der Erforschung pathogenetischer Mechanismen der rheumatoiden Arthritis angewendete Untersuchungsmethode (92-94) erlaubt bei intraartikulärer Applikation von Abriebmaterial eine Untersuchung der biologischen Reaktionen auf diese Partikel. (37-39)

Die funktionelle Kapillardichte stellt einen geeigneten Parameter zur Bestimmung der Gewebepfusion dar. (92;125) Eine gesteigerte Gewebepfusion ist charakteristisch für entzündliche Prozesse. (42) Auch im Rahmen periprothetischer

entzündlicher und osteolytischer Prozesse wurde eine verstärkte Neovaskularisierung des Gewebes beobachtet. (34;126) Eine gesteigerte Neovaskularisierung und Angiogenese des periprothetischen Gewebes wurde auch bei gelockerten Prothesen nachgewiesen. (34;34;37;37;126) Die Messung der funktionellen Kapillardichte erlaubt eine quantitative Analyse dieser Angiogenese und Perfusion. (34;37-39;126) Die funktionelle Kapillardichte als Parameter entzündlicher Aktivität wird auch in der Erforschung synovialer Pathomechanismen der rheumatoiden Arthritis verwendet. (92-94) Veränderungen der Mikrozirkulation und der Leukozyten-Endothelzell-Interaktionen als Reaktion auf das Vorliegen von Fremdkörperpartikel wurde auch von Kraft et al. intravitalmikroskopisch an quergestreifter Muskulatur untersucht. (127;128) Titan und rostfreier Stahl, en bloc sowie als Mikropartikel führten zu Veränderungen der Mikrozirkulation und Leukozytenmigration in diesem Gewebe. Das Ausmaß dieser Reaktionen variierte jedoch sowohl bei den Materialien als auch bei der Applikationsform. So zeigte sich wiederum, dass insbesondere Mikropartikel dieser Werkstoffe massive Reaktionen des Gewebes hervorrufen und die biologisch deutlich aktivere Form der Werkstoffe darstellen. (127) Weiterhin verdeutlichen die Versuche von Zysk et al. und von Kraft et al., dass diese Versuchmodelle frühzeitig auftretende Veränderungen der Leukozytenmigration und der Mikrozirkulation bei der Fremdkörperreaktion des Gewebes erfassen und quantifizieren können.

Neben der beschriebenen Intravitalmikroskopie wurde auch eine histopathologische Untersuchung der Synovialmembran durchgeführt. Der dazu verwendete histopathologische Score wurde von Brackertz et al. vorgestellt (98) und ist als geeigneter Parameter entzündlicher Veränderungen des Kniegelenks anerkannt. (37-39;98;129)

Charakteristische pathologische Veränderungen des Periimplantatgewebes in Folge von Prothesenabrieb sind seit langer Zeit bekannt. (15;26;36;130) Zysk et al. beschreiben pathologische Veränderungen der Synovialmembran in Folge intraartikulärer Partikelapplikation. (37-39) Die histologische Untersuchung der Gelenkscapsel bestätigte, dass in Folge der intraartikulären Partikelapplikation reaktive entzündliche Veränderungen der Synovialmembran festzustellen sind. So zeigten sich eine Verdickung der synovialen Zell- und Bindegewebsschicht sowie

eine Zunahme monozytärer Infiltrate in allen Versuchsgruppen mit Partikelapplikation verglichen mit der Kontrollgruppe.

Da diese Veränderungen histologisch bereits acht Tage nach Partikelapplikation festgestellt werden können, wird der Verdacht bestätigt, dass die Anwesenheit von Abriebpartikeln eine direkte Reaktion des Gewebes hervorruft. Die intravitalmikroskopische Analyse der Leukozyten-Endothelzellinteraktion und mikrozirkulatorischer Veränderungen in Kombination mit der Histologie stellt ein geeignetes Verfahren dar, diese initialen biologischen Reaktionen festzustellen und zu messen.

In den meisten oben dargestellten Versuchsmodellen werden die biologischen Reaktionen auf Abriebpartikel *in vitro* oder gelenksfremden Körperteilen (Calvaria, Subkutangewebe) untersucht. Dagegen können mit dem hier verwendeten Modell die von Abriebpartikeln hervorgerufenen biologischen Reaktionen in der Gelenkkapsel untersucht werden. (41;74) Wechselwirkungen des artikulären und periartikulären Gewebes werden von dem Versuchsmodell erfasst und berücksichtigt. (37-39;92;93)

Neben Makrophagen und anderen phagozytosefähigen Zellen, wird bei einer Reihe anderer Zellen ebenfalls vermutet, am Pathomechanismus periprothetischer Osteolysen beteiligt zu sein. (123;131-133) So wird die Beteiligung von u.a. Lymphozyten (37;39;92;93), sowie Fibro- und Osteoblasten, Mast- und Endothelzellen bei den beobachteten Vorgängen vermutet. (23;38;123;134;135)

Weiterhin hervorzuheben ist, dass in dieser Studie Partikelmaterial aus Kryopulverisation verwendet wurde. Die Materialproben sind in Verteilung und Größenspektrum mit Abriebpartikeln *ex vivo* und aus Kniegelenk-Simulationsversuchen vergleichbar. (siehe Kapitel 3.4.)

Häufig kommen in Versuchen zur Untersuchung von Abriebpartikeln herkömmliche, meist sphärische, industriell gefertigte Mikropartikel in gewünschter Größe zur Verwendung. So verwendeten Zysk et al. in den Versuchen zur Untersuchung inflammatorischer Reaktionen auf Mikropartikel sphärische Polystyrol-Partikel in Größen von 0,5 µm, 2 µm und 75 µm zur intraartikulären Applikation. (38) Form und Größe von Abriebpartikeln stellen wesentliche Einflussfaktoren auf die Stärke der von ihnen ausgelösten biologischen Reaktionen dar. (19;38;46;47) Abriebmaterial

setzt sich aus Abriebpartikeln verschiedener Größen in unterschiedlicher Häufigkeit zusammen. Biologische Reaktionen auf Abriebpartikel können nur detailgetreu untersucht werden, wenn die Größenspektren der Partikel dem tatsächlichen Abriebverhalten der Materialien entsprechen. Der Vorteil industriell hergestellter Partikelproben liegt in der leichten Reproduzierbarkeit und in der Möglichkeit, mit geringem Aufwand endotoxinfreies Partikelmaterial für die intraartikuläre Applikation herzustellen. (53) Alternativ wäre die Verwendung nativen Abriebmaterials, aus Simulationsversuchen oder durch Isolation aus Periimplantatgeweben möglich. (136) Diese Methode birgt jedoch die Gefahr einer Ergebnisverfälschung durch Endotoxinbelastung der Partikelproben. (37;38)

Zu betonen ist, dass das hier zur Verwendung gekommene Versuchsmodell keine Analyse der von den Abriebpartikeln ausgelösten Osteolysen erlaubt. Folglich kann mit diesem Modell auch keine Quantifizierung von Knochenverlust erfolgen. Im Gegensatz zu einigen anderen oben beschriebenen Versuchsmodellen handelt es sich bei dem hier verwendeten Modell zwar um ein intraartikuläres Versuchsmodell, es verfügt jedoch über keinerlei Implantat, bzw. Knochen-Implantat-Grenze, an der biologische Reaktionen und histologische Veränderungen durch das Partikelmaterial untersucht und gemessen werden können.

Kein Versuchsmodell kann jedoch den kompletten Pathomechanismus der Entstehung periprothetischer Osteolysen und die einzelnen Schritte in diesem komplexen Prozess wiedergeben. Ein Modell, das sowohl die initialen Prozesse durch das Vorliegen von Abriebpartikeln als auch die reaktiven Osteolysen quantifizieren kann, existiert nicht. Dafür erfasst das verwendete Modell den kleinen Ausschnitt der initialen Reaktionen des artikulären Gewebes auf das Vorliegen von Abriebpartikel. Dass es sich bei diesen Reaktionen um entzündliche Veränderungen des Gewebes handelt, konnte in dieser und in anderen Arbeiten gezeigt werden. (37-39) Ebenfalls bekannt ist, dass die Kaskade entzündlicher Vorgänge und proinflammatorischer Zytokine zu einer Osteoklastenaktivierung führen und damit osteolytisch wirksam sind. (27;30;40;41)

Ob es neben den bereits besprochenen Vorgängen Synergismen gibt, die auf anderem Wege zu den beobachteten Reaktionen führen oder weitere Ursachen für periprothetische Osteolysen existieren, wird aktuell intensiv diskutiert.

Als weitere mögliche Ursache der aseptischen Prothesenlockerung wird derzeit die Rolle von Toll-like-Rezeptoren und deren Liganden im periprothetischem Gewebe besprochen. (137-139) Bei Toll-like-Rezeptoren handelt es sich um einen Rezeptormechanismus des angeborenen Immunsystems. (137;139) Dieser Mechanismus führt in Folge von Gewebeschädigung oder auch durch das Erkennen von Antigenen oder Endotoxinen (wie Lipopolysaccharid) zu einer Aktivierung von humoralen und zellulären Abwehrmechanismen. (138) Neben der Phagozytose von Abriebpartikel durch immunkompetente Zellen wird auch die Triggerung entzündlicher Reaktionen durch den Kontakt des Toll-like-Rezeptors mit Lipopolysaccharid-behafteten Abriebpartikeln als möglicher Ausgangspunkt von Gewebereaktionen auf Abriebmaterial gesehen. (19;137;139) Toll-like-Rezeptor-positive Zellen konnten in Gewebeproben der Interfacemembran aseptisch gelockerter Totalendoprothesen festgestellt werden. (137;139) Deren Bedeutung wird durch die mögliche Behaftung der Abriebpartikel mit Endotoxinen ohne Hinweis auf Bestehen einer Infektion erklärt. (137) Die Bedeutung der Toll-like-Rezeptoren und der Endotoxine in der Aktivierung osteolytischer Prozesse ist derzeit noch nicht ganz geklärt. (19) Auf jeden Fall scheinen sie neben der Phagozytose von Abriebpartikeln ebenfalls von Bedeutung zu sein. (19;137-139)

Daneben wird derzeit die Rolle von metallischem Abrieb und Korrosion der Endoprothesenmaterialien, bzw. die biologischen Reaktionen des Gewebes auf Metallionen untersucht. (19;140;141) Die Akkumulation von metallischem Abrieb und reaktive Veränderungen des periprothetischen Gewebes (s.g. Metallose) sind seit langem bekannt. (19) Sowohl metallische Abriebpartikel als auch Metallionen können die Freisetzung pro-inflammatorischer Botenstoffe provozieren und daneben bei entsprechender Disposition eine Typ-IV-Immunreaktion (zellvermittelte Reaktion vom Spättyp) hervorrufen. (19;20;140-142)

Der Stellenwert dieser Mechanismen in der Entstehung periprothetischer Osteolysen muss jedoch noch diskutiert werden und wird sicherlich Gegenstand weiterer Studien sein müssen.

Diskussion der Ergebnisse

Betrachtet man die Versuchsergebnisse dieser Studie, so kann zusammenfassend die biologische Aktivität des CFR-PEEK-PAN, des CFR-PEEK-pitch und der des UHMWPE in der murinen Synovia als vergleichbar betrachtet werden. Dabei verhalten sich die beiden untersuchten Faserkunststoffverbunde in Hinblick auf die biologischen Reaktionen und entzündlichen Veränderungen des synovialen Gewebes ähnlich dem UHMWPE. Untersuchungen bei der CFR-PEEK-pitch-Gruppe zeigen darüber hinaus signifikant geringere Veränderungen in den Parametern „funktionelle Kapillardichte“ ($p < 0,001$) und „Synovialmembrandicke“ ($p = 0,002$) als bei dem auf PAN-Carbonfasern basierendem PEEK-Verbundwerkstoff. Dies lässt auf ein günstigeres Verhalten des CFR-PEEK-pitch-Werkstoffes, verglichen mit dem CFR-PEEK-PAN-Werkstoff in der Synovialmembran schließen.

Die Frage, inwieweit sich die drei Materialien in ihren biologischen Reaktionen und provozierten initialen entzündlichen Veränderungen unterscheiden, bzw. wie sich die Faserkunststoffverbunde von dem UHMWPE unterscheiden lassen, konnte somit beantwortet werden.

Von besonderem Interesse ist dabei, wie sich die Faserkunststoffverbunde CFR-PEEK-pitch und CFR-PEEK-PAN, verglichen mit UHMWPE verhalten würden. Bisherige Erkenntnisse bezüglich der Biokompatibilität von PEEK und dessen Verbundwerkstoffen basierten vor allem auf *in vitro* Versuchen und beschränkten sich meist auf Zytotoxizitäts- oder Mutagenitätsprüfungen. (49;75;143)

Katzer et al. konnten im Rahmen von *in vitro*-Versuchen mit Bakterienkulturen keinerlei Evidenz von Zellschädigungen oder Mutationen durch PEEK feststellen. (143) Auch bei 30% PAN-carbonfaserverstärktem PEEK konnten keinerlei zytotoxischen Effekte festgestellt werden. (144;145) Jockisch et al. untersuchten die Biokompatibilität von 30% CFR-PEEK *in vivo*, jedoch nicht in Form des biologisch aktiveren Partikelmaterials (127), sondern als Block. (75) Jockisch et al. konnten sowohl im Kaninchenmuskel als auch ossär lediglich unspezifische Fremdkörpergewebsreaktionen feststellen. (75) Reaktive Veränderungen des synovialen Gewebes auf die Applikation von Abriebpartikeln konnte auch in den histopathologischen Untersuchungen der Synovialpräparate in dieser Studie beobachtet werden.

In der Literatur wird die Biokompatibilität von CFR-PEEK, als Block oder in Form von Mikropartikeln, als mit der anderer Biomaterialien wie UHMWPE vergleichbar beschrieben. (49;75;143;145;146) Die in dieser Studie vorgestellten Ergebnisse bestätigen die bereits *in vitro* gemachte Beobachtung, dass Abriebpartikel von CFR-PEEK-Verbundwerkstoffen *in vivo* keine stärkere Inflammation hervorrufen als UHMWPE-Partikel. Ergänzend dazu zeigen die Ergebnisse dieser Studie, dass die biologischen Reaktionen auf CFR-PEEK-Partikel unterschiedlich stark ausfallen können.

Auffallend bei den oben vorgestellten Ergebnissen ist eine in zwei Parametern feststellbare signifikant höhere biologische Aktivität von CFR-PEEK-PAN-Partikeln in der murinen Synovialmembran verglichen mit der von CFR-PEEK-pitch-Partikeln. Dies gilt für die Parameter „funktionelle Kapillardichte“ und „Synovialdicke“. Ursächlich für die stärkere biologische Aktivität von CFR-PEEK-PAN gegenüber CFR-PEEK-pitch und UHMWPE in dieser Studie könnten Unterschiede in der Zusammensetzung der verwendeten Partikelmaterialproben sein.

Vergleicht man das Größenspektrum der Abriebpartikel der beiden CFR-PEEK-Verbunde, so fällt bei dem Kryo-Pulverisat des CFR-PEEK-PAN ein deutlich kleinerer durchschnittlicher Durchmesser des intraartikulär applizierten Partikelmaterials auf (CFR-PEEK-PAN: 0,285 μm), als bei CFR-PEEK-pitch (1,22 μm) und bei UHMWPE (0,791 μm). Bekannt ist, dass sowohl die Größe des Partikelmaterials für die Stärke der biologischen Reaktionen mitverantwortlich ist (38;46;50), als auch die Partikelform. (47) In verschiedenen *in vitro* als auch *in vivo*-Versuchen zeigte sich, dass von kleinen Partikeln eine stärkere inflammatorische Wirkung ausgeht als von größeren Partikeln. (38;45;48;50;147) Zysk et al. konnten zeigen, dass Kunststoffmikropartikel jeder Größe intraartikulär eine entzündliche Reaktion hervorrufen, diese Reaktion jedoch bei kleinen Partikeln (0,5 μm , 2 μm) stärker ausgeprägt ist als bei größeren Partikeln (75 μm). (38) Mikropartikel, welche kleiner als 1 Mikrometer sind, werden als die am biologisch aktivsten Partikel diskutiert. (45;50) Die in dieser Studie in einigen Parametern festgestellte signifikant stärkere biologische Aktivität des CFR-PEEK-PAN-Materials kann durch den deutlich kleineren Durchmesser der Mikropartikel in den untersuchten Partikelproben erklärt werden. Stärkere biologische Reaktionen des Synovialgewebes auf CFR-PEEK-PAN-Partikel waren jedoch nicht in allen gemessenen Parametern zu erkennen. Als

statistisch signifikant zeigte sich der Unterschied in der histopathologischen Messung der Synovialdicke und in dem Parameter „funktionelle Kapillardichte“.

Weiterführende Untersuchungen sind notwendig, um diese Beobachtungen zu bestätigen oder weiter zu differenzieren, warum sich diese Wirkung nicht in allen Parametern zeigte.

In weiterführenden Versuchen innerhalb der Arbeitsgruppe, bei denen größenidentische Partikelproben des CFR-PEEK-PAN zur Verwendung kamen, konnten die signifikanten Unterschiede zwischen CFR-PEEK-pitch und CFR-PEEK-PAN nicht beobachtet werden. (99)

Von großem Interesse ist die Frage, ob sich CFR-PEEK-Verbundwerkstoffe zur Verwendung in der Knieendoprothetik zur Gleitpaarung eignen. Die mechanischen und chemischen Eigenschaften carbonfaserverstärkter PEEK-Verbundwerkstoffe sind sehr gut. Ob diese Werkstoffgruppen in der Anwendung als Gleitpaarung in der Knieendoprothetik wirklich dem UHMWPE überlegen sind, wird noch kontrovers diskutiert. (22;55;69;78;79;99)

Die Frage, ob sich die biologische Aktivität von CFR-PEEK-Partikeln und von UHMWPE unterscheidet, konnte in dieser Studie beantwortet werden. Inwieweit sich die theoretischen und teilweise bereits experimentell bestätigten Vorteile der Carbonfaser-PEEK-Verbunde in der klinischen Anwendung bestätigen, ist abzuwarten. Hierzu sind weitere Studien notwendig, welche die klinische Nutzbarkeit und Eignung dieser Materialien prüfen müssen.

Ob CFR-PEEK-Verbundwerkstoffe dazu in der Lage sind, sich in der Knieendoprothetik gegenüber dem bisher zur Verwendung kommenden UHMWPE zu behaupten oder gar dieses zu verdrängen, wird der klinische Einsatz zeigen.

6. Zusammenfassung

Die aseptische Prothesenlockerung stellt immer noch eine schwerwiegende Komplikation der Gelenkendoprothetik dar. Sie ist die häufigste Ursache für das späte Implantatversagen in der Knieendoprothetik. Der Pathomechanismus der Entstehung periprothetischer Osteolysen ist noch nicht bis ins Detail erforscht, jedoch ist als Triggermechanismus das Vorliegen von Abriebpartikeln durch mechanischen Verschleiß der Gleitpaarung im periprothetischen Situs anerkannt. Man vermutet eine entzündliche Reaktion als Antwort auf das Partikelmaterial, ausgelöst durch immunkompetente Zellen. Im Rahmen der beobachteten entzündlichen Vorgänge des periprothetischen Gewebes kommt es zu einer Aktivierung osteolytischer Mechanismen, welche zu einer abnehmenden Verankerung der Prothese im Knochen führen.

Bisher kam in der Kniegelenkendoprothetik als Gleitpaarungskomponente vorwiegend Polyethylen (UHMWPE) zur Verwendung, jedoch ist die Haltbarkeit der Prothesen auf Grund der mangelnden Widerstandsfähigkeit des PE und der oben genannten Mechanismen limitiert. Neue Möglichkeiten, die Haltbarkeit von Prothesenkomponenten zu verbessern, könnten sich durch die Verwendung moderner hochwiderstandsfähiger Carbonfaserkunststoffverbunde, wie CFR-PEEK (carbonfaserverstärktes Polyetheretherketon) ergeben, welche neben erstklassigen mechanischen und chemischen Eigenschaften auch *in vitro* eine gute Biokompatibilität aufweisen. In einigen Versuchen zeigten sich deutlich bessere tribologische Eigenschaften bei diesen Carbonfaserkunststoffverbunden, verglichen mit UHMWPE. Ob diese Werkstoffe in der Knieendoprothetik dem UHMWPE tatsächlich überlegen sind, wird derzeit noch intensiv diskutiert.

Die biologische Aktivität von CFR-PEEK-Abriebpartikeln wurde noch nie *in vivo* untersucht. Ziel dieser Studie war es, die biologischen Reaktionen und die entzündliche Potenz zweier CFR-PEEK-Modifikationen und die des UHMWPE in der murinen Kniegelenksynovia zu vergleichen. Dazu wurden mit Balb-C-Mäusen von 18-25 g vier Versuchsgruppen gebildet (Kontrolle n=8, UHMWPE n=8, CFR-PEEK-

pitch n=8, CFR-PEEK-PAN n=8). Es wurden je nach Versuchsgruppe 50 µl einer 0,1 Vol%, endotoxinfreien Mikropartikelsuspension dieser Materialien in die Gelenkkapsel des linken Knies der Mäuse appliziert. Bei den Mäusen der Kontrollgruppe wurden entsprechend 50 µl einer sterilen PBS-Lösung intraartikulär injiziert. Bei den Mikropartikeln handelte es sich um durch Kryo-Pulverisation hergestellte Partikelproben der drei Werkstoffe (UHMWPE, CFR-PEEK-pitch und CFR-PEEK-PAN), welche in Größe und Verteilungsspektrum dem Abriebmaterial aus Kniegelenks simulationsversuchen ähnelten.

An Tag 8 erfolgte nach mikrochirurgischer Präparation der Kniegelenkskapsel die fluoreszenzgestützte intravitalmikroskopische Untersuchung der Synovialmembran zur Bestimmung mikrozirkulatorischer Veränderungen kapillärer und postkapillärer Gefäße. Dabei wurden neben Gefäßdicke und Fließgeschwindigkeit die Leukozyten-Endothelzell-Interaktionen in diesen Gefäßen sowie die funktionelle Kapillardichte der Synovialmembran gemessen. Weiterhin erfolgte die histopathologische Untersuchung der Kniegelenkspräparate mit der Bestimmung der Synovialzellproliferation und der entzündlichen Aktivität des synovialen Gewebes mit Hilfe eines Arthritis-Scores.

Die Ergebnisse zeigten, dass die biologische Aktivität des CFR-PEEK-PAN, CFR-PEEK-pitch und des UHMWPE in der murinen Synovialmembran als vergleichbar betrachtet werden können. Dabei konnten in Hinblick auf biologische Reaktionen und entzündliche Veränderungen in drei der fünf untersuchten Parameter keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Faserkunststoffverbunden und dem UHMWPE festgestellt werden. In zwei der fünf untersuchten Parameter wies CFR-PEEK-PAN eine signifikant stärkere entzündliche Aktivität als der CFR-PEEK-pitch-Werkstoff auf. Beim Vergleich der beiden Faserkunststoffverbunde sind anhand der hier vorgestellten Daten die Abriebpartikel des CFR-PEEK-PAN als inflammatorischer zu erachten als die des CFR-PEEK-pitch-Verbundwerkstoffes.

Die Ergebnisse dieser Studie bestätigen die in der Literatur bereits beschriebene gute Biokompatibilität von CFR-PEEK-Verbunden auch für *in vivo* Verhältnisse. Ursächlich für die beobachteten stärkeren biologischen Reaktionen auf CFR-PEEK-PAN-Partikel könnte der deutlich geringere Durchmesser der CFR-PEEK-PAN-Partikel in der in dieser Studie zur Verwendung gekommenen Partikelprobe sein. Die

beobachtete gute Biokompatibilität und die hervorragenden mechanischen und tribologischen Eigenschaften machen CFR-PEEK zu einem attraktiven Werkstoff für die Gleitpaarung in Knieendoprothesen. Ob sich die Vorteile dieser neuen Werkstoffe auch in der klinischen Anwendung widerspiegeln, müssen klinische Studien zeigen.

7. Literaturverzeichnis

- (1) Theodor H.Schiebler. Anatomie. 9. ed. Springer Verlag, Heidelberg; 2005. p. 330-6.
- (2) Putz, Papst. Sobotta - Atlas der Anatomie untere Extremität. Sobotta - Atlas der Anatomie. 22 ed. Elsevier GmbH, München; 2006. p. 281-90.
- (3) Frank H.Netter. Atlas der Anatomie. 4 ed. Elsevier, München; 2008. p.509
- (4) A.B.Imhoff RBRDL. Checkliste Orthopädie. Thieme-Verlag, Stuttgart; 2006. p.418-421
- (5) Bellemans, Ries, Victor. Total Knee Arthroplasty. Springer Verlag, Heidelberg; 2005. p.25-56
- (6) H.-P.Scharf, A.Rüter. Orthopädie und Unfallchirurgie. Elsevier; München: 2009. p.782-783
- (7) Maximilian Reiser F-PKJD. Duale Reihe Radiologie. 2 ed. Thieme-Verlag, Stuttgart; 2006. p.357-358
- (8) Lutzner J, Hubel U, Kirschner S, Gunther KP, Krummenauer F. [Long-term results in total knee arthroplasty : A meta-analysis of revision rates and functional outcome.]
1. Chirurg 2011 Jan 23.
- (9) König A, Kirschner S. [Long-term results in total knee arthroplasty]
1. Orthopäde 2003 Jun;32(6):516-26.
- (10) Khatod M, Inacio M, Paxton EW, Bini SA, Namba RS, Burchette RJ, et al. Knee replacement: epidemiology, outcomes, and trends in Southern California: 17,080 replacements from 1995 through 2004
1. Acta Orthop 2008 Dec;79(6):812-9.
- (11) Niethard P. Duale Reihe Orthopädie. 2005. Thieme Verlag, Stuttgart, p.512-514
- (12) Kurtz SM, Walker PS. How have new designs and new types of joint replacement influenced wear behavior?
3. J Am Acad Orthop Surg 2008;16 Suppl 1:S107-S110.

- (13) McEwen HM, Barnett PI, Bell CJ, Farrar R, Auger DD, Stone MH, et al. The influence of design, materials and kinematics on the in vitro wear of total knee replacements
1. J Biomech 2005 Feb;38(2):357-65.
- (14) Catelas I, Jacobs JJ. Biologic activity of wear particles
2. Instr Course Lect 2010;59:3-16.
- (15) Kaddick C, Catelas I, Pennekamp PH, Wimmer MA. [Implant wear and aseptic loosening. An overview]
1. Orthopade 2009 Aug;38(8):690-7.
- (16) Catelas I, Wimmer MA, Utzschneider S. Polyethylene and metal wear particles: characteristics and biological effects
1. Semin Immunopathol 2011 Jan 26.
- (17) Jacobs JJ, Shanbhag A, Glant TT, Black J, Galante JO. Wear Debris in Total Joint Replacements
6. J Am Acad Orthop Surg 1994 Jul;2(4):212-20.
- (18) Jacobs JJ, Shanbhag A, Glant TT, Black J, Galante JO. Wear Debris in Total Joint Replacements
6. J Am Acad Orthop Surg 1994 Jul;2(4):212-20.
- (19) Hallab NJ, Jacobs JJ. Biologic effects of implant debris
1. Bull NYU Hosp Jt Dis 2009;67(2):182-8.
- (20) Jacobs JJ, Hallab NJ, Urban RM, Wimmer MA. Wear particles
3. J Bone Joint Surg Am 2006 Apr;88 Suppl 2:99-102.
- (21) McKellop HA, Campbell P, Park SH, Schmalzried TP, Grigoris P, Amstutz HC, et al. The origin of submicron polyethylene wear debris in total hip arthroplasty
1. Clin Orthop Relat Res 1995 Feb;(311):3-20.
- (22) Grupp TM, Utzschneider S, Schroder C, Schwiesau J, Fritz B, Maas A, et al. Biotribology of alternative bearing materials for unicompartmental knee arthroplasty
1. Acta Biomater 2010 Sep;6(9):3601-10.
- (23) Purdue PE, Koulouvaris P, Nestor BJ, Sculco TP. The central role of wear debris in periprosthetic osteolysis
1. HSS J 2006 Sep;2(2):102-13.
- (24) O.Boy, S.Hahn, E.Kociemba. BQS Qualitätsreport Knie-Totalendoprothesen Erstimplantation 2008. 2008.
Ref Type: Data File
- (25) Richter-Kuhlmann E. Endoprothesenregister: „Ganze Produktgruppen werden vom Markt verschwinden“. Deutsches Aerzteblatt 2008;2008; 105(1-2).

- (26) Otto M. [Classification of prosthetic loosening and determination of wear particles]
1. Pathologe 2008 Nov;29 Suppl 2:232-9.
- (27) Wooley PH, Schwarz EM. Aseptic loosening
11. Gene Ther 2004 Feb;11(4):402-7.
- (28) Bader R, Mittelmeier W, Steinhauser E. [Failure analysis of total knee replacement. Basics and methodological aspects of the damage analysis]
8. Orthopade 2006 Sep;35(9):896, 898-3.
- (29) Harris WH. Wear and periprosthetic osteolysis: the problem
11. Clin Orthop Relat Res 2001 Dec;(393):66-70.
- (30) Yang SY, Yu H, Gong W, Wu B, Mayton L, Costello R, et al. Murine model of prosthesis failure for the long-term study of aseptic loosening
1. J Orthop Res 2007 May;25(5):603-11.
- (31) Jacobs JJ, Shanbhag A, Glant TT, Black J, Galante JO. Wear Debris in Total Joint Replacements
6. J Am Acad Orthop Surg 1994 Jul;2(4):212-20.
- (32) Kaufman AM, Alabre CI, Rubash HE, Shanbhag AS. Human macrophage response to UHMWPE, TiAlV, CoCr, and alumina particles: analysis of multiple cytokines using protein arrays. J Biomed Mater Res A 2008 Feb;84(2):464-74.
- (33) Shanbhag AS, Jacobs JJ, Black J, Galante JO, Glant TT. Macrophage/particle interactions: effect of size, composition and surface area. J Biomed Mater Res 1994 Jan;28(1):81-90.
- (34) al-Saffar N, Mah JT, Kadoya Y, Revell PA. Neovascularisation and the induction of cell adhesion molecules in response to degradation products from orthopaedic implants
1. Ann Rheum Dis 1995 Mar;54(3):201-8.
- (35) Howie DW, Manthey B, Hay S, Vernon-Roberts B. The synovial response to intraarticular injection in rats of polyethylene wear particles
1. Clin Orthop Relat Res 1993 Jul;(292):352-7.
- (36) Schmalzried TP, Jasty M, Harris WH. Periprosthetic bone loss in total hip arthroplasty. Polyethylene wear debris and the concept of the effective joint space
2. J Bone Joint Surg Am 1992 Jul;74(6):849-63.
- (37) Zysk SP, Gebhard HH, Pellengahr C, Refior HJ, Plitz W, Messmer K, et al. [Inflammatory responses to wear particles in vivo: a novel model in the murine knee joint]. Orthopade 2003 Apr;32(4):305-11.
- (38) Zysk SP, Gebhard HH, Kalteis T, Schmitt-Sody M, Jansson V, Messmer K, et al. Particles of all sizes provoke inflammatory responses in vivo. Clin Orthop Relat Res 2005 Apr;(433):258-64.

- (39) Zysk SP, Gebhard H, Plitz W, Buchhorn GH, Sprecher CM, Jansson V, et al. Influence of orthopedic particulate biomaterials on inflammation and synovial microcirculation in the murine knee joint. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2004 Oct 15;71(1):108-15.
- (40) Boyce BF, Li P, Yao Z, Zhang Q, Badell IR, Schwarz EM, et al. TNF-alpha and pathologic bone resorption
1. *Keio J Med* 2005 Sep;54(3):127-31.
- (41) Veigl D, Niederlova J, Krystufkova O. Periprosthetic osteolysis and its association with RANKL expression
1. *Physiol Res* 2007;56(4):455-62.
- (42) Bochner BS. Road signs guiding leukocytes along the inflammation superhighway
1. *J Allergy Clin Immunol* 2000 Nov;106(5):817-28.
- (43) Nakashima Y, Sun DH, Trindade MC, Maloney WJ, Goodman SB, Schurman DJ, et al. Signaling pathways for tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 expression in human macrophages exposed to titanium-alloy particulate debris in vitro. *J Bone Joint Surg Am* 1999 May;81(5):603-15.
- (44) Böcker, Denk, Heitz. *Pathologie*. 4 ed. Urban&Fischer, München; 2008.
- (45) Matthews JB, Besong AA, Green TR, Stone MH, Wroblewski BM, Fisher J, et al. Evaluation of the response of primary human peripheral blood mononuclear phagocytes to challenge with in vitro generated clinically relevant UHMWPE particles of known size and dose
1. *J Biomed Mater Res* 2000 Nov;52(2):296-307.
- (46) Gelb H, Schumacher HR, Cuckler J, Ducheyne P, Baker DG. In vivo inflammatory response to polymethylmethacrylate particulate debris: effect of size, morphology, and surface area
8. *J Orthop Res* 1994 Jan;12(1):83-92.
- (47) Sieving A, Wu B, Mayton L, Nasser S, Wooley PH. Morphological characteristics of total joint arthroplasty-derived ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) wear debris that provoke inflammation in a murine model of inflammation
1. *J Biomed Mater Res A* 2003 Mar 1;64(3):457-64.
- (48) Catelas I, Huk OL, Petit A, Zukor DJ, Marchand R, Yahia L. Flow cytometric analysis of macrophage response to ceramic and polyethylene particles: effects of size, concentration, and composition
5. *J Biomed Mater Res* 1998 Sep 15;41(4):600-7.
- (49) Kurtz SM, Devine JN. PEEK biomaterials in trauma, orthopedic, and spinal implants. *Biomaterials* 2007 Nov;28(32):4845-69.
- (50) Green TR, Fisher J, Matthews JB, Stone MH, Ingham E. Effect of size and dose on bone resorption activity of macrophages by in vitro clinically relevant

- ultra high molecular weight polyethylene particles
17. J Biomed Mater Res 2000 Sep;53(5):490-7.
- (51) Wooley PH, Morren R, Andary J, Sud S, Yang SY, Mayton L, et al. Inflammatory responses to orthopaedic biomaterials in the murine air pouch
3. Biomaterials 2002 Jan;23(2):517-26.
- (52) Moore R, Beredjikian P, Rhoad R, Theiss S, Cuckler J, Ducheyne P, et al. A comparison of the inflammatory potential of particulates derived from two composite materials. J Biomed Mater Res 1997 Feb;34(2):137-47.
- (53) Utzschneider S, Paulus A, Datz JC, Schroeder C, Sievers B, Wegener B, et al. Influence of design and bearing material on polyethylene wear particle generation in total knee replacement
1. Acta Biomater 2009 Mar 24.
- (54) Plitz W. [Knee endoprosthesis: selection and requirements of materials]
11. Orthopade 2000 Aug;29(8):727-31.
- (55) Scholes SC, Unsworth A. Wear studies on the likely performance of CFR-PEEK/CoCrMo for use as artificial joint bearing materials
2. J Mater Sci Mater Med 2009 Jan;20(1):163-70.
- (56) Lombardi AV, Jr., Berasi CC, Berend KR. Evolution of tibial fixation in total knee arthroplasty
1. J Arthroplasty 2007 Jun;22(4 Suppl 1):25-9.
- (57) Plitz W. [Knee endoprosthesis: selection and requirements of materials]
11. Orthopade 2000 Aug;29(8):727-31.
- (58) Lichtinger TK, Schurmann N, Muller RT. [Early loosening of a cemented hip endoprosthesis stem of titanium]
1. Unfallchirurg 2000 Nov;103(11):956-60.
- (59) Lichtinger TK, Schurmann N, Muller RT. [Early loosening of a cemented hip endoprosthesis stem of titanium]
1. Unfallchirurg 2000 Nov;103(11):956-60.
- (60) Eingartner C, Ihm A, Maurer F, Volkmann R, Weise K, Weller S. [Good long term results with a cemented straight femoral shaft prosthesis made of titanium]
4. Unfallchirurg 2002 Sep;105(9):804-10.
- (61) Lichtinger TK, Schurmann N, Muller RT. [Early loosening of a cemented hip endoprosthesis stem of titanium]
1. Unfallchirurg 2000 Nov;103(11):956-60.
- (62) Bowditch M, Villar R. Is titanium so bad? Medium-term outcome of cemented titanium stems
1. J Bone Joint Surg Br 2001 Jul;83(5):680-5.

- (63) Gomez-Barrena E, Puertolas JA, Munuera L, Konttinen YT. Update on UHMWPE research: from the bench to the bedside
1. Acta Orthop 2008 Dec;79(6):832-40.
- (64) Brach Del Prever EM, Bistolfi A, Bracco P, Costa L. UHMWPE for arthroplasty: past or future?
1. J Orthop Traumatol 2009 Mar;10(1):1-8.
- (65) Bader R, Steinhauser E, Rechl H, Siebels W, Mittelmeier W, Gradinger R. [Carbon fiber-reinforced plastics as implant materials]
23. Orthopade 2003 Jan;32(1):32-40.
- (66) Rodriguez JA. Cross-linked polyethylene in total knee arthroplasty: in opposition
1. J Arthroplasty 2008 Oct;23(7 Suppl):31-4.
- (67) Wright TM. Polyethylene in knee arthroplasty: what is the future?
4. Clin Orthop Relat Res 2005 Nov;440:141-8.
- (68) Jacobs JJ, Shanbhag A, Glant TT, Black J, Galante JO. Wear Debris in Total Joint Replacements
6. J Am Acad Orthop Surg 1994 Jul;2(4):212-20.
- (69) Scholes SC, Unsworth A. Pitch-based carbon-fibre-reinforced poly (ether-ether-ketone) OPTIMA assessed as a bearing material in a mobile bearing unicondylar knee joint
1. Proc Inst Mech Eng [H] 2009 Jan;223(1):13-25.
- (70) Flöck J, Friedrich K, Yuan Q. On the friction and wear behaviour of PAN- and pitch-carbon fiber reinforced PEEK composites. Wear 1999;225-229:204-311.
- (71) Yuan Q, Bateman S, Friedrich K. Thermal and Mechanical Properties of PAN- and pitch-Based Carbon Fiber Reinforced PEEK Composites. Journal of Thermoplastic Composite Materials 2008 Aug;21.
- (72) ez-Pascual AM, Naffakh M, Gomez MA, Marco C, Ellis G, Gonzalez-Dominguez JM, et al. The influence of a compatibilizer on the thermal and dynamic mechanical properties of PEEK/carbon nanotube composites
1. Nanotechnology 2009 Aug 5;20(31):315707.
- (73) Godara A, Raabe D, Green S. The influence of sterilization processes on the micromechanical properties of carbon fiber-reinforced PEEK composites for bone implant applications
1. Acta Biomater 2007 Mar;3(2):209-20.
- (74) Jarman-Smith M. Evolving uses for implantable PEEK and PEEK based compounds
1. Med Device Technol 2008 Oct;19(6):12-5.

- (75) Jockisch KA, Brown SA, Bauer TW, Merritt K. Biological response to chopped-carbon-fiber-reinforced peek
1. J Biomed Mater Res 1992 Feb;26(2):133-46.
- (76) Williams D. Polyetheretherketone for long-term implantable devices
1. Med Device Technol 2008 Jan;19(1):8, 10-8, 11.
- (77) Joyce TJ, Monk D, Scholes SC, Unsworth A. A multi-directional wear screening device and preliminary results of UHMWPE articulating against stainless steel
1. Biomed Mater Eng 2000;10(3-4):241-9.
- (78) Scholes SC, Unsworth A. The wear properties of CFR-PEEK-OPTIMA articulating against ceramic assessed on a multidirectional pin-on-plate machine
3. Proc Inst Mech Eng [H] 2007 Apr;221(3):281-9.
- (79) Grupp TM, Kaddick C, Schwiesau J, Maas A, Stulberg SD. Fixed and mobile bearing total knee arthroplasty--influence on wear generation, corresponding wear areas, knee kinematics and particle composition
2. Clin Biomech (Bristol , Avon) 2009 Feb;24(2):210-7.
- (80) Vermes C, Glant TT, Hallab NJ, Fritz EA, Roebuck KA, Jacobs JJ. The potential role of the osteoblast in the development of periprosthetic osteolysis: review of in vitro osteoblast responses to wear debris, corrosion products, and cytokines and growth factors
3. J Arthroplasty 2001 Dec;16(8 Suppl 1):95-100.
- (81) Kadl A, Leitinger N. The role of endothelial cells in the resolution of acute inflammation
1. Antioxid Redox Signal 2005 Nov;7(11-12):1744-54.
- (82) Carlos TM, Harlan JM. Leukocyte-endothelial adhesion molecules
1. Blood 1994 Oct 1;84(7):2068-101.
- (83) Radi ZA, Kehrli ME, Jr., Ackermann MR. Cell adhesion molecules, leukocyte trafficking, and strategies to reduce leukocyte infiltration
1. J Vet Intern Med 2001 Nov;15(6):516-29.
- (84) Steeber DA, Campbell MA, Basit A, Ley K, Tedder TF. Optimal selectin-mediated rolling of leukocytes during inflammation in vivo requires intercellular adhesion molecule-1 expression
4. Proc Natl Acad Sci U S A 1998 Jun 23;95(13):7562-7.
- (85) Steeber DA, Tedder TF. Adhesion molecule cascades direct lymphocyte recirculation and leukocyte migration during inflammation
1. Immunol Res 2000;22(2-3):299-317.
- (86) Radi ZA, Kehrli ME, Jr., Ackermann MR. Cell adhesion molecules, leukocyte trafficking, and strategies to reduce leukocyte infiltration
1. J Vet Intern Med 2001 Nov;15(6):516-29.

- (87) Kadono T. [The role of adhesion molecules in cutaneous inflammation]
1. Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi 2010;33(5):242-8.
- (88) Steeber DA, Campbell MA, Basit A, Ley K, Tedder TF. Optimal selectin-mediated rolling of leukocytes during inflammation in vivo requires intercellular adhesion molecule-1 expression
4. Proc Natl Acad Sci U S A 1998 Jun 23;95(13):7562-7.
- (89) Pate M, Damarla V, Chi DS, Negi S, Krishnaswamy G. Endothelial cell biology: role in the inflammatory response
1. Adv Clin Chem 2010;52:109-30.
- (90) Kuebler WM, Kuhnle GE, Groh J, Goetz AE. Leukocyte kinetics in pulmonary microcirculation: intravital fluorescence microscopic study
9. J Appl Physiol 1994 Jan;76(1):65-71.
- (91) Eichhorn ME, Ney L, Massberg S, Goetz AE. Platelet kinetics in the pulmonary microcirculation in vivo assessed by intravital microscopy
2. J Vasc Res 2002 Jul;39(4):330-9.
- (92) Veihelmann A, Szczesny G, Nolte D, Krombach F, Refior HJ, Messmer K. A novel model for the study of synovial microcirculation in the mouse knee joint in vivo
1. Res Exp Med (Berl) 1998 Jul;198(1):43-54.
- (93) Veihelmann A, Harris AG, Krombach F, Schutze E, Refior HJ, Messmer K. In vivo assessment of synovial microcirculation and leukocyte-endothelial cell interaction in mouse antigen-induced arthritis
1. Microcirculation 1999 Dec;6(4):281-90.
- (94) Schmitt-Sody M, Klose A, Gottschalk O, Metz P, Gebhard H, Zysk S, et al. Platelet-endothelial cell interactions in murine antigen-induced arthritis
1. Rheumatology (Oxford) 2005 Jul;44(7):885-9.
- (95) Niedzwiecki S, Klapperich C, Short J, Jani S, Ries M, Pruitt L. Comparison of three joint simulator wear debris isolation techniques: acid digestion, base digestion, and enzyme cleavage
9. J Biomed Mater Res 2001 Aug;56(2):245-9.
- (96) Affatato S, Fernandes B, Tucci A, Esposito L, Toni A. Isolation and morphological characterisation of UHMWPE wear debris generated in vitro
2. Biomaterials 2001 Sep;22(17):2325-31.
- (97) Baatz H, Steinbauer M, Harris AG, Krombach F. Kinetics of white blood cell staining by intravascular administration of rhodamine 6G
1. Int J Microcirc Clin Exp 1995 Mar;15(2):85-91.
- (98) Brackertz D, Mitchell GF, Mackay IR. Antigen-induced arthritis in mice. I. Induction of arthritis in various strains of mice
4. Arthritis Rheum 1977 Apr;20(3):841-50.

- (99) Utzschneider S, Becker F, Grupp TM, Sievers B, Paulus A, Gottschalk O, et al. Inflammatory response against different carbon fiber-reinforced PEEK wear particles compared with UHMWPE in vivo
1. Acta Biomater 2010 Nov;6(11):4296-304.
- (100) Wooley PH, Morren R, Andary J, Sud S, Yang SY, Mayton L, et al. Inflammatory responses to orthopaedic biomaterials in the murine air pouch
3. Biomaterials 2002 Jan;23(2):517-26.
- (101) Bauer TW. Particles and periimplant bone resorption
2. Clin Orthop Relat Res 2002 Dec;(405):138-43.
- (102) Wooley PH, Morren R, Andary J, Sud S, Yang SY, Mayton L, et al. Inflammatory responses to orthopaedic biomaterials in the murine air pouch
3. Biomaterials 2002 Jan;23(2):517-26.
- (103) Davies AP, Willert HG, Campbell PA, Learmonth ID, Case CP. An unusual lymphocytic perivascular infiltration in tissues around contemporary metal-on-metal joint replacements. J Bone Joint Surg Am 2005 Jan;87(1):18-27.
- (104) Wooley PH, Morren R, Andary J, Sud S, Yang SY, Mayton L, et al. Inflammatory responses to orthopaedic biomaterials in the murine air pouch
3. Biomaterials 2002 Jan;23(2):517-26.
- (105) Zeintl H, Sack FU, Intaglietta M, Messmer K. Computer assisted leukocyte adhesion measurement in intravital microscopy
1. Int J Microcirc Clin Exp 1989 Jul;8(3):293-302.
- (106) Green TR, Fisher J, Stone M, Wroblewski BM, Ingham E. Polyethylene particles of a 'critical size' are necessary for the induction of cytokines by macrophages in vitro
1. Biomaterials 1998 Dec;19(24):2297-302.
- (107) Nakashima Y, Sun DH, Trindade MC, Maloney WJ, Goodman SB, Schurman DJ, et al. Signaling pathways for tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 expression in human macrophages exposed to titanium-alloy particulate debris in vitro. J Bone Joint Surg Am 1999 May;81(5):603-15.
- (108) Wooley PH, Morren R, Andary J, Sud S, Yang SY, Mayton L, et al. Inflammatory responses to orthopaedic biomaterials in the murine air pouch
3. Biomaterials 2002 Jan;23(2):517-26.
- (109) Wooley PH, Morren R, Andary J, Sud S, Yang SY, Mayton L, et al. Inflammatory responses to orthopaedic biomaterials in the murine air pouch
3. Biomaterials 2002 Jan;23(2):517-26.
- (110) Peng X, Zhang X, Zeng B. Locally administered lentivirus-mediated siRNA inhibits wear debris-induced inflammation in murine air pouch model
5. Biotechnol Lett 2008 Nov;30(11):1923-9.

- (111) Wooley PH, Morren R, Andary J, Sud S, Yang SY, Mayton L, et al. Inflammatory responses to orthopaedic biomaterials in the murine air pouch 3. *Biomaterials* 2002 Jan;23(2):517-26.
- (112) Wooley PH, Morren R, Andary J, Sud S, Yang SY, Mayton L, et al. Inflammatory responses to orthopaedic biomaterials in the murine air pouch 3. *Biomaterials* 2002 Jan;23(2):517-26.
- (113) Ren W, Yang SY, Wooley PH. A novel murine model of orthopaedic wear-debris associated osteolysis 12. *Scand J Rheumatol* 2004;33(5):349-57.
- (114) Merkel KD, Erdmann JM, McHugh KP, bu-Amer Y, Ross FP, Teitelbaum SL. Tumor necrosis factor-alpha mediates orthopedic implant osteolysis 1. *Am J Pathol* 1999 Jan;154(1):203-10.
- (115) von KM, Jewison DE, Sibonga JD, Sprecher C, Morrey BF, Loer F, et al. The effectiveness of polyethylene versus titanium particles in inducing osteolysis in vivo 1. *J Orthop Res* 2004 Mar;22(2):237-43.
- (116) Zhang C, Tang T, Ren W, Zhang X, Dai K. Influence of mouse genetic background on wear particle-induced in vivo inflammatory osteolysis 1. *Inflamm Res* 2008 May;57(5):211-5.
- (117) Zhang T, Yu H, Gong W, Zhang L, Jia T, Wooley PH, et al. The effect of osteoprotegerin gene modification on wear debris-induced osteolysis in a murine model of knee prosthesis failure 1. *Biomaterials* 2009 Oct;30(30):6102-8.
- (118) Illgen RL, Forsythe TM, Pike JW, Laurent MP, Blanchard CR. Highly crosslinked vs conventional polyethylene particles--an in vitro comparison of biologic activities 2. *J Arthroplasty* 2008 Aug;23(5):721-31.
- (119) Illgen RL, Bauer LM, Hotujec BT, Kolpin SE, Bakhtiar A, Forsythe TM. Highly crosslinked vs conventional polyethylene particles: relative in vivo inflammatory response 1. *J Arthroplasty* 2009 Jan;24(1):117-24.
- (120) Millett PJ, Allen MJ, Bostrom MP. Effects of alendronate on particle-induced osteolysis in a rat model 1. *J Bone Joint Surg Am* 2002 Feb;84-A(2):236-49.
- (121) Ma T, Huang Z, Ren PG, McCally R, Lindsey D, Smith RL, et al. An in vivo murine model of continuous intramedullary infusion of polyethylene particles 1. *Biomaterials* 2008 Sep;29(27):3738-42.
- (122) Ma T, Ortiz SG, Huang Z, Ren P, Smith RL, Goodman SB. In vivo murine model of continuous intramedullary infusion of particles--a preliminary study 1. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009 Jan;88(1):250-3.

- (123) al-Saffar N, Revell PA. Pathology of the bone-implant interfaces
1. J Long Term Eff Med Implants 1999;9(4):319-47.
- (124) Shanbhag AS, Hasselman CT, Rubash HE. The John Charnley Award.
Inhibition of wear debris mediated osteolysis in a canine total hip arthroplasty model
1. Clin Orthop Relat Res 1997 Nov;(344):33-43.
- (125) Nolte D, Zeintl H, Steinbauer M, Pickelmann S, Messmer K. Functional capillary density: an indicator of tissue perfusion?
1. Int J Microcirc Clin Exp 1995 Sep;15(5):244-9.
- (126) Tunyogi-Csapo M, Koreny T, Vermes C, Galante JO, Jacobs JJ, Glant TT. Role of fibroblasts and fibroblast-derived growth factors in periprosthetic angiogenesis
1. J Orthop Res 2007 Oct;25(10):1378-88.
- (127) Kraft CN, Diedrich O, Burian B, Schmitt O, Wimmer MA. Microvascular response of striated muscle to metal debris. A comparative in vivo study with titanium and stainless steel
4. J Bone Joint Surg Br 2003 Jan;85(1):133-41.
- (128) Kraft CN, Burian B, Diedrich O, Gessmann J, Wimmer MA, Pennekamp PH. Microvascular response of striated muscle to common arthroplasty-alloys: A comparative in vivo study with CoCrMo, Ti-6Al-4V, and Ti-6Al-7Nb
3. J Biomed Mater Res A 2005 Oct 1;75(1):31-40.
- (129) Brackertz D, Mitchell GF, Vadas MA, Mackay IR, Miller JF. Studies on antigen-induced arthritis in mice. II. Immunologic correlates of arthritis susceptibility in mice
3. J Immunol 1977 May;118(5):1639-44.
- (130) Willert HG. Reactions of the articular capsule to wear products of artificial joint prostheses. J Biomed Mater Res 1977 Mar;11(2):157-64.
- (131) Bauer TW. Particles and periimplant bone resorption
2. Clin Orthop Relat Res 2002 Dec;(405):138-43.
- (132) Bauer TW, Schils J. The pathology of total joint arthroplasty. I. Mechanisms of implant fixation
9. Skeletal Radiol 1999 Aug;28(8):423-32.
- (133) Bauer TW, Schils J. The pathology of total joint arthroplasty.II. Mechanisms of implant failure
8. Skeletal Radiol 1999 Sep;28(9):483-97.
- (134) Koreny T, Tunyogi-Csapo M, Gal I, Vermes C, Jacobs JJ, Glant TT. The role of fibroblasts and fibroblast-derived factors in periprosthetic osteolysis
2. Arthritis Rheum 2006 Oct;54(10):3221-32.
- (135) Vermes C, Glant TT, Hallab NJ, Fritz EA, Roebuck KA, Jacobs JJ. The potential role of the osteoblast in the development of periprosthetic

- osteolysis: review of in vitro osteoblast responses to wear debris, corrosion products, and cytokines and growth factors
3. J Arthroplasty 2001 Dec;16(8 Suppl 1):95-100.
- (136) Minoda Y, Kobayashi A, Iwaki H, Miyaguchi M, Kadoya Y, Ohashi H, et al. Polyethylene wear particles in synovial fluid after total knee arthroplasty
3. Clin Orthop Relat Res 2003 May;(410):165-72.
- (137) Takagi M, Tamaki Y, Hasegawa H, Takakubo Y, Konttinen L, Tiainen VM, et al. Toll-like receptors in the interface membrane around loosening total hip replacement implants
1. J Biomed Mater Res A 2007 Jun 15;81(4):1017-26.
- (138) Pajarinen J, Mackiewicz Z, Pollanen R, Takagi M, Epstein NJ, Ma T, et al. Titanium particles modulate expression of Toll-like receptor proteins
1. J Biomed Mater Res A 2010 Mar 15;92(4):1528-37.
- (139) Pajarinen J, Cenni E, Savarino L, Gomez-Barrena E, Tamaki Y, Takagi M, et al. Profile of toll-like receptor-positive cells in septic and aseptic loosening of total hip arthroplasty implants
1. J Biomed Mater Res A 2010 Jul;94(1):84-92.
- (140) Caicedo MS, Desai R, McAllister K, Reddy A, Jacobs JJ, Hallab NJ. Soluble and particulate Co-Cr-Mo alloy implant metals activate the inflammasome danger signaling pathway in human macrophages: a novel mechanism for implant debris reactivity
3. J Orthop Res 2009 Jul;27(7):847-54.
- (141) Caicedo MS, Pennekamp PH, McAllister K, Jacobs JJ, Hallab NJ. Soluble ions more than particulate cobalt-alloy implant debris induce monocyte costimulatory molecule expression and release of proinflammatory cytokines critical to metal-induced lymphocyte reactivity
1. J Biomed Mater Res A 2010 Jun 15;93(4):1312-21.
- (142) Jacobs JJ, Hallab NJ, Skipor AK, Urban RM. Metal degradation products: a cause for concern in metal-metal bearings?
5. Clin Orthop Relat Res 2003 Dec;(417):139-47.
- (143) Katzer A, Marquardt H, Westendorf J, Wening JV, von FG. Polyetheretherketone--cytotoxicity and mutagenicity in vitro
1. Biomaterials 2002 Apr;23(8):1749-59.
- (144) Howling GI, Sakoda H, Antonarulrajah A, Marrs H, Stewart TD, Appleyard S, et al. Biological response to wear debris generated in carbon based composites as potential bearing surfaces for artificial hip joints
1. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2003 Nov 15;67(2):758-64.
- (145) Howling GI, Ingham E, Sakoda H, Stewart TD, Fisher J, Antonarulrajah A, et al. Carbon-carbon composite bearing materials in hip arthroplasty: analysis of wear and biological response to wear debris
1. J Mater Sci Mater Med 2004 Jan;15(1):91-8.

- (146) Howling GI, Sakoda H, Antonarulrajah A, Marrs H, Stewart TD, Appleyard S, et al. Biological response to wear debris generated in carbon based composites as potential bearing surfaces for artificial hip joints
1. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2003 Nov 15;67(2):758-64.
- (147) Green TR, Fisher J, Stone M, Wroblewski BM, Ingham E. Polyethylene particles of a 'critical size' are necessary for the induction of cytokines by macrophages in vitro
1. Biomaterials 1998 Dec;19(24):2297-302.

8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1-1: Die Anatomie des Kniegelenkes; Quelle:(3)	7
Abbildung 1-2: Unikondyläres Kniesystem Univation F®, Aesculap AG, (Quelle: Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland).....	9
Abbildung 1-3: Bikondyläres Kniesystem Columbus® CR, Aesculap AG, (Quelle: Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland).....	10
Abbildung 1-4: Achsgeführte Knieendoprothese, Enduro® - Rotating Hinge Knee, Aesculap AG, (Quelle: Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland).....	11
Abbildung 1-5: Die Phagozytose von Abriebmaterial, die Rolle der Metallionen und der Toll-like-Rezeptoren; Quelle: (19).....	17
Abbildung 1-6: Strukturformel PEEK; Quelle: www.ce-mag.com.....	23
Abbildung 1-7: Mikrostruktur CFR-PEEK-pitch (Quelle: Aesculap AG, Tuttlingen)...	25
Abbildung 1-8: Mikrostruktur CFR-PEEK-PAN (Quelle: Aesculap AG, Tuttlingen) ...	25
Abbildung 1-9: Leukozyten-Endothelzellinteraktion; Quelle:(82)	29
Abbildung 1-10: Leukozyten-Endothelzellinteraktion inklusiv der beteiligten Oberflächenmoleküle; Quelle:(44)	30
Abbildung 3-1: UHMWPE; durchschnittliche Partikelgröße und kumulative Häufigkeit der Mikropartikel aus Kryo-Pulverisierung und aus Simulationsversuchen (22)	36

Abbildung 3-2: CFR-pitch-PEEK; durchschnittliche Partikelgröße und kumulative Häufigkeit der Mikropartikel aus Kryo-Pulverisierung und aus Simulationsversuchen (22)	37
Abbildung 3-3: CFR-PAN-PEEK; durchschnittliche Partikelgröße und kumulative Häufigkeit der Mikropartikel aus Kryo-Pulverisierung und aus Simulationsversuchen (22)	38
Abbildung 3-4: Narkotisierte Balb/C-Maus in Lagerung auf Plexiglassblock in Knieflexion. Nach Desinfektion und Wegstreichen des Felles ist das Lig. patellae erkennbar. Von anterior erfolgt durch das Ligament die Punktion des Kniegelenks. 42	
Abbildung 3-5: Kniegelenk vor und nach Durchtrennen des Lig. Patellae. Unter dem Lig. Patellae kommt der Hoffa´sche Fettkörper zum Vorschein.....	43
Abbildung 4-1: Fraktion rollender Leukozyten:	58
Abbildung 4-2: Zahl adhärenter Zellen (Zellen/mm ²)	59
Abbildung 4-3: Funktionelle Kapillardichte (cm/cm ²).....	60
Abbildung 4-4: Histologische Schnitte der Kniegelenksynovia, HE-Färbung, 400x-Vergrößerung Quelle: (99).....	61
Abbildung 4-5: Histopathologischer Score (angegeben als Median)	62
Abbildung 4-6: Synovialmembrandicke	63

9. Abkürzungen

BQS	Bundesgeschäftsstelle Qualitätssicherung gGmbH
CFR	carbon fibre reinforced
CoCrMo	Cobalt-Chrom-Molybdän
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
Fa.	Firma
FITC	Fluorescein-isothiocyanat-dextran
HE-Färbung	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
IL-1 bzw. 6	Interleukin 1 bzw. 6
ICAM-1	inter-cellular adhesion molecule 1
Lig.	Ligamentum
LPS	Lipopolysaccharid
MW	Mittelwert
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
PAEK	Polyaryletherketon
PAN	Polyacrylnitril
PBS	phosphatgepufferte Kochsalzlösung
PECAM-1	platelet/endothelial cell adhesion molecule 1
PE	Polyethylen
PEEK	Polyetheretherketon
PEKK	Polyaryletherketonketon
PGE 2	Prostaglandin E2
Pitch	engl. Teer
PMMA	Polymethylmethacrylat
PSF	Polysulfon
RANKL	receptor agonist of NFκ-B-ligand
SEM	standard error of the mean / Standardfehler
TEP	Totalendoprothese
TNFα	Tumornekrosefaktor α
UHMWPE	ultra-high-molecular-weight-polyethylene
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule 1

10. Danksagung

Diese Dissertation wurde an der Orthopädischen Klinik und Poliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität unter der Leitung von Prof. Dr. med. Dipl.-Ing. Volkmar Jansson abgelegt.

Die wissenschaftliche Arbeit wurde am Walter-Brendel-Zentrum und am Institut für Biomechanik und Experimentelle Orthopädie der LMU München durchgeführt.

Ich möchte mich herzlich bei Prof. Dr. Jansson für die Aufnahme in die orthopädische Arbeitsgruppe und die Möglichkeit der Dissertation bedanken.

Besonders möchte ich meiner wissenschaftlichen Betreuerin Frau PD Dr. Sandra Utzschneider danken, die mir das Thema dieser Arbeit vorgeschlagen hat und mir in der Entstehung, bei der Durchführung und beim Abschluss dieser Arbeit hilfreich zur Seite gestanden hat.

Auch Frau Dr. Birte Sievers gilt besonderer Dank für die große Unterstützung bei der Organisation und Durchführung der Versuche.

Weiterhin möchte ich mich bei Frau Bärbel Schmitt für die Anleitung und Hilfe bei der Aufarbeitung der histologischen Präparate danken.

Herrn Dr. Oliver Gottschalk danke ich sehr für die Einarbeitung in die Intravitalmikroskopie.

Großer Dank gilt auch den anderen Doktoranden des Instituts, welche mich auf kollegiale Art und Weise bei dieser Arbeit unterstützt haben.

11. Lebenslauf

Persönliche Daten:	Fabian Stefan Becker Geb. am 23.11.1984 in Neustadt an der Weinstraße Familienstand: ledig
Schulbildung:	
3/2004	Abitur am Leibniz-Gymnasium Neustadt/W.
Studium:	
10/2004-9/2006	Studium der Humanmedizin an der LMU München Vorklinischer Studienabschnitt
9/2006	1. Teil der ärztlichen Prüfung
10/2006-11/2010	Studium der Humanmedizin an der TU München
11/2010	2. Teil der ärztlichen Prüfung
Beruflicher Werdegang:	
12/2010	Erteilung der Approbation als Arzt durch die Regierung von Oberbayern
Seit 12/2010	Assistenzarzt in der chirurgischen Klinik, Krankenhaus Schongau