

Aus dem Institut für Pathologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Materialabhängige CD3-Response in der SLIM bei dysfunktionalen
Gelenkendoprothesen**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Felix Hopf

aus Homburg/Saar

Datum der Promotion: 09.12.2016

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Endoprothetik in Deutschland	1
1.2 Gründe für Prothesenversagen	2
1.3 Die periprothetische Membran.....	5
1.4 Funktion und Bedeutung der CD3-positiven T-Lymphozyten bei aseptischer Endoprothesenlockerung.....	8
1.5 Zementfreie Hüftgelenktotalendoprothesen.....	10
1.6 Zementierbare Hüftendoprothesen.....	11
1.7 Gleitpaarung bei Hüftendoprothesen.....	12
1.8 Kniegelenksendoprothesen.....	13
1.9 Arthrofibrose	14
2. Aufgabenstellung.....	15
3. Material und Methode.....	17
3.1 Patientenkollektiv.....	17
3.2 Aufarbeitung der Gewebe	19
3.3 Partikelalgorithmus nach Krenn et al. (2014).....	20
3.4 Die Konsensusklassifikation.....	25
3.5 Untersuchungsmethode	26
3.6 Computergestützte Quantifizierung.....	28
3.7 Statistische Methoden.....	30
4. Ergebnis	31
4.1 Beschreibung der Daten	31
4.2 Grafische Analyse der CD3-Quantität.....	34
4.3 Statistische Analyse	39
5. Diskussion.....	56
5.1 Histopathologische Klassifikation der SLIM.....	56
5.2 Toxische und immunologische implantatmaterial-allergische Reaktion.....	59
5.3 Materialabhängige CD3-Response in der SLIM.....	60
5.4 Mögliche pathogene Ursachen supramakropartikulärer Partikel.....	63
5.5 Bewertung der CD3-Quantifizierungssoftware („CD3-Quantifier).....	65
5.6 Anforderungen der Studie	67

6. Literaturverzeichnis.....	71
7. Anhang.....	77
7.1 Verzeichnis der Abbildungen, Tabellen und Formeln	77
7.2 Curriculum vitae	80
7.3 Eidesstattliche Versicherung.....	81
7.4 Veröffentlichungen	82
7.5 Danksagung.....	83

Abstract

Einleitung

Die Gelenkendoprothetik ist eine der erfolgreichsten operativen Verfahren. Trotz kontinuierlicher Verbesserung des Materials und der OP-Technik ist die Standzeit der Endoprothese begrenzt. Nach jahrelanger Funktion des Kunstgelenkes kommt es oft zur Auslockerung des Implantats aus dem Knochen. Es gibt viele Hinweise darauf, dass Materialabrieb ein wichtiger Faktor des Lockerungsprozesses ist. Das Abriebmaterial sammelt sich in der Gelenkkapsel und induziert die Bildung einer Bindegewebsschicht zwischen Implantat und Knochen („SLIM“). Die Abriebpartikel lassen sich in diesen Geweben nachweisen und induzieren dort eine lymphozytäre Entzündung („CD3-Response“).

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht:

1. Der Einfluss der unterschiedlichen Abriebpartikel auf die Quantität der CD3-positiven T-Lymphozyten,
2. der mögliche Einfluss positiver implantatmaterial-allergologischer Befunde auf das lymphozytäre Infiltrat,
3. und die Standzeiten von Präparaten mit Supramakropartikeln im Vergleich zu den Standzeiten von Präparaten ohne Supramakropartikel.
4. Des Weiteren wurde in Zusammenarbeit mit VmScope Berlin GmbH eine CD3-Quantifizierungssoftware („CD3-Quantifier“) entwickelt.

Material/Methode

In der vorliegenden histologischen Untersuchung wurden insgesamt 249 Präparate analysiert, die anlässlich einer Revisionsoperation bei Endoprothesen des Hüft- und Kniegelenkes gewonnen worden waren. Die Präparate wurden hinsichtlich der Konsensusklassifikation nach Morawietz, Krenn et al. (2006) kategorisiert, die Partikelidentifikation erfolgte gemäß des Partikelalgorithmus. Immunhistochemisch wurden die CD3-positiven Lymphozyten dargestellt und quantifiziert. Die CD3-Quantitäten wurden den Gleitpaarungen gegenübergestellt.

Ergebnisse

Die CD3-Quantität war bei den Me-Me Gleitpaarungen (n=49) am stärksten (Mittelwert von 1367.6 gezählten Zellen). Die lymphozytäre Reaktion bei Me-PE (Mittelwert von 243.3 gezählten Zellen) und Ker-PE Gleitpaarungen (Mittelwert von 182.9 gezählten Zellen) war hochsignifikant geringer, besonders bei der Ker-PE Gleitpaarung (n=44, $p=1,888 \times 10^{-10}$). Bei den Ker-Ker Gleitpaarungen (Mittelwert von 124.6 gezählten Zellen) war die lymphozytäre Reaktion hochsignifikant am geringsten (n=14, $p=4,908 \times 10^{-11}$). Bei Patienten mit nachgewiesener Kontaktallergie auf das verwendete Implantatmaterial konnte keine signifikante erhöhte CD3-Lymphozytose festgestellt werden ($p=0.1492$).

Die Standzeiten der Endoprothesen, bei denen Supramakropartikel vorlagen, waren hochsignifikant höher ($p=0.0009$).

Schlussfolgerung

Das Vorliegen einer starken CD3-Quantität bei Me-Me Gleitpaarungen könnte die schlechten klinischen Ergebnisse dieser Materialkombination erklären. Alle anderen Gleitpaarungen zeigten hochsignifikant kleinere Lymphozytosen. Ob die geringen Unterschiede zwischen den Nichtmetall-Gleitpaarungen klinische Relevanz haben, ist unklar. Zur objektivierten Beurteilung der CD3-Quantität als Substrat einer adversen Reaktion wurde ein Grenzwert pro HPF ermittelt („CD3-Fokus-Score“), dieser kann in der histopathologischen Diagnostik eingesetzt werden.

Das Auftreten von supramakropartikulärem Abriebmaterial bei Endoprothesen mit sehr langer Standzeit scheint multifaktorielle Ursachen zu haben. Der „CD3-Quantifier“ brachte einen Zeitgewinn, war aber nicht so zuverlässig wie die manuelle Auszählung.

Abstract

Introduction

Joint arthroplasty is a very successful surgical procedure. However the lifespan of an endoprosthesis is limited whereby the most frequent cause of failure is aseptic loosening. There is a great deal evidence that material abrasion is an important factor of the loosening process. The abrasion material accumulates in the joint capsule and induces the formation of a tissue layer between implant and bone ("SLIM"). Abrasion particles can be detected in these tissues and revise to trigger a lymphocytic inflammation ("CD3-response").

The objectives of this study were:

1. The analysis of the lymphocytic infiltrate depending on material.
2. The possible influence of positive allergological findings on the lymphocytic infiltrate.
3. The lifespan of endoprostheses with supramacroparticles compared to the lifetime of endoprostheses without supramacroparticles.
4. Furthermore, in collaboration with VmScope Berlin GmbH, a "CD3-Quantifier" was developed.

Material/Method

For the histological study at hand, 249 preparations in total were evaluated, which were obtained on the occasion of revision surgeries of endoprostheses of hip and knee joints. The preparations were categorized according to the consensusclassification of Morawietz, Krenn et al. (2006), the particleidentification occurred according to the particle algorithm. The CD3-positive lymphocytes were displayed immunohistochemically and quantified. Finally, the CD3-quantities were faced to the tribological pairings.

Results

The Me-Me pairings (n=49) showed the highest amount of CD3-lymphocytes (average of 1367.6 counted cells). The lymphocytic reaction of Me-PE (average of 243.3 counted cells) and Ker-PE pairings (average of 182.9 counted cells) was significantly smaller, in particular for Ker-PE pairings (n=44, $p=1,888 \times 10^{-10}$). Cases with Ker-Ker pairings (average of 124.6 counted cells) showed the smallest amount of CD3-lymphocytes (n=14, $p=4,908 \times 10^{-11}$). Patients with verifiable contact allergy for the implant material used did not have a significantly increased CD3-lymphocytosis.

The lifetimes of the endoprostheses, which showed supramacroparticles, were revealed to be significantly prolonged (n=27, $p=0.0009$).

Conclusion

The presence of a strong CD3-response for Me-Me pairings might explain the bad clinical results of this material combination. It remains unclear, whether the slight differences for the non-metal endoprostheses have clinical relevance. For an objective assessment of the CD3-response as a result of an adverse reaction, a limit value/HPF was established ("CD3-focus-score").

The appearance of supramacroparticulate abrasion material for endoprostheses with a long lifetime, seems to have multifactorial causes.

The "CD3-Quantifier" lead to time saving but did not have the same accuracy as the direct enumeration under the microscope.

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

ANOVA	analysis of variance
CD	Cluster of differentiation
Cr-Co-Mb	Chrom-Cobalt-Molybdän
EDX	energy dispersive X-ray
FTIR	Fourier transform infrared spectroscopy
HE	Hämatoxylin-Eosin
HPF	high-power field
Ke-Ke	Keramik-Keramik
Ke-PE	Keramik-Polyethylen
Me-Me	Metall-Metall
Me-PE	Metall-Polyethylen
OECD	Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung
PAS	Periodic acid-Schiff
PE	Polyethylen
PMMA	Polymethylmethacrylat
SLIM	Synovial-like interface membrane
TEP	Totalendoprothese
UHMW-PE	Ultra-High-Molecular-Weight Polyethylene

1. Einleitung

1.1 Endoprothetik in Deutschland

Die Implantation einer Endoprothese in Knie- und Hüftgelenk gilt als Therapie der Wahl bei Versagen der eigenen Gelenkstrukturen. Hauptindikation für eine Implantation sind degenerative Erkrankungen, Traumata, Entzündungen, Durchblutungsstörungen und Erkrankungen rheumatischer Genese. Der endoprothetische Ersatz des Knie- und Hüftgelenkes zählt zu den Routineoperationen in deutschen Krankenhäusern.

Hierzulande werden im internationalen Vergleich nach der Schweiz die meisten Hüft- und die drittmeisten Knieendoprothesen in den OECD-Staaten implantiert [WENGLER, NIMPTSCH AND MANSKY 2014]. Die Operationstechnik und die verwendeten Materialien werden ständig verbessert und es kommen laufend neue Systeme auf den Markt. Etwa 200 Unternehmen stellen Hüftendoprothesen her; die führenden 10 Hersteller haben einen Marktanteil von etwa 94% [ORTHOWORLD INC 2013]. 2012 wurden in Deutschland 15,7 Millionen Operationen durchgeführt. Zu den drei am häufigsten durchgeführten Eingriffen zählt die Hüftendoprothesenimplantation [HILLIENHOF 2013]. Die Zahl bleibt seit etwa 2009 konstant.

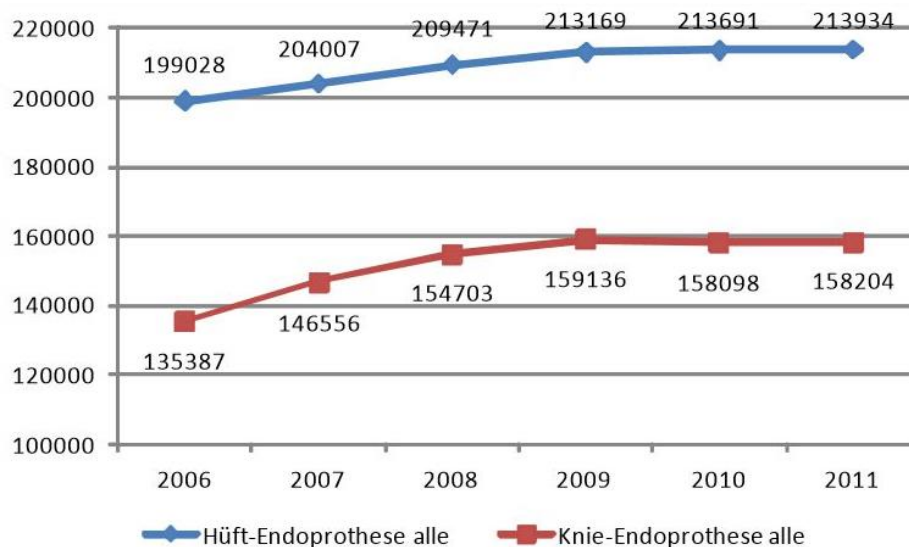


Abbildung 1: Anzahl der primären Hüft- und Knieimplantationen in Deutschland [Statistisches Bundesamt 2007-2012]

Der künstliche Gelenkersatz bietet den Patienten einen enormen Zugewinn an Lebensqualität, da selbst sportliche Tätigkeiten wieder ausgeführt werden können und sie fast die gleiche Mobilität wie altersentsprechende gesunde Menschen erlangen [ETHGEN, BRUYÈRE, RICHY, ET AL. 2004].

Die Anforderung an die künstlichen Hüft- und Kniegelenke steigen aber auch. Die steigende Lebenserwartung in Deutschland erfordert eine erhöhte Lebensdauer der Endoprothesen. Andererseits wünschen heute jüngere Patienten, die eine aktive Lebensführung mit Sport betreiben, eine Endoprothese, die dieser Beanspruchung gewachsen ist.

1.2 Gründe für Prothesenversagen

Obwohl die heutigen Endoprothesen sehr langlebig sind und viele Jahre ihre Funktion ohne Störung erfüllen, ist ihre Lebensdauer begrenzt. Nach 10 Jahren haben circa 5% der Träger einer primären Hüft-TEP Beschwerden [MALCHAU, HERBERTS AND AHN FELT 1993]. Wurde die Endoprothese bereits gewechselt, steigt die Zahl auf das Doppelte [PHILPOTT, WESTON-SIMONS, GRAMMATOPOULOS, ET AL. 2014]. Eine beginnende Lockerung einer Endoprothese äußert sich häufig als Belastungs- und Anlaufschmerz, der mit der Zeit zunimmt. Die Standzeit der Endoprothese hängt von vielen Faktoren ab. Beispielsweise spielt das Alter des Patienten zum Zeitpunkt der Implantation eine Rolle [BERRY, HARMSSEN, CABANELA, ET AL. 2002]. Junge Männer scheinen eine etwas schlechtere Prognose zu haben [BERRY, HARMSSEN, CABANELA, ET AL. 2002]. Möglicherweise ist die verstärkte körperliche Aktivität in diesem Alter mit erhöhter Beanspruchung der Endoprothese der Grund.

Das Versagen einer Endoprothese ist multifaktoriell. Während zu Beginn der Endoprothetikära Implantatbrüche häufig waren, sind diese durch verbesserte Materialien heute selten geworden [ULRICH, SEYLER, BENNETT, ET AL. 2008]. Heutzutage stellt das noch ungelöste Problem die Auslockerung des Implantats aus dem Knochen dar. Grundsätzlich sind zwei Pathomechanismen für die Lockerung von Endoprothesen verantwortlich: die septische und aseptische Endoprothesenlockerung [PETERS, FRITZEN

AND KLOSTERHALFEN 2008]. Bei der septischen Lockerung kann es durch Früh- oder Spätinfektionen zu einer Auslockerung der Endoprothese kommen, wenn sich Bakterien auf der Oberfläche der Endoprothese einnisten und die Abwehrreaktion zum Zurückweichen des Knochens vom Implantat führt [SONG, BORGWARDT, HØIBY, ET AL. 2013].

Die aseptische Lockerung tritt mit circa 80% deutlich häufiger auf [MOHR 2000]. Die zunächst feste Verbindung der Endoprothese mit dem Knochen wird zunehmend durch eine bindegewebige Zwischenschicht, der Lockerungsmembran, ersetzt. Es kommt zu Mikrobewegungen der Endoprothese im Knochen, ein Vorgang, der für den Patienten schmerzhaft ist.

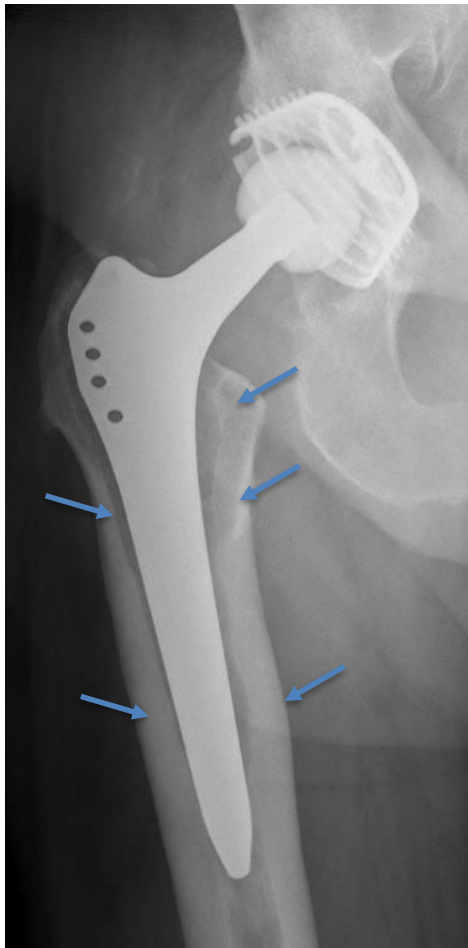


Abbildung 2: Aseptisch gelockerter Schaft einer Hüft-TEP (Pfeile zeigen Resorptionszonen des Knochens bei Ausbildung einer SLIM, Nativröntgen) [Orthopädie, Brüderkrankenhaus Trier]

Für die Entstehung der Lockerungsmembran werden verschiedene Pathomechanismen diskutiert. Zum einen können Abriebpartikel, die durch Reibung der Endoprothesenkomponenten entstehen, zu einer Makrophagenaktivierung führen, die an der Grenzfläche zwischen Knochen und Endoprothese zu der Bindegewebsmembranbildung und damit zur Lockerung der Endoprothese beitragen kann [GEHRKE, SERS, MORAWIETZ, ET AL. 2003]. Zum anderen führen auch septische Endoprothesenlockerungen zur Ausbildung einer periprothetischen Membran [GEHRKE, SERS, MORAWIETZ, ET AL. 2003].

Die Fremdkörperreaktion ist besonders stark, wenn durch Anschlagphänomene oder Subluxationsereignisse ein erhöhter Materialabtrag verursacht wird. Dies kann beispielsweise bei Fehlimplantation der Fall sein. Die Auslockerung einer Endoprothese, septisch oder aseptisch, lässt sich nicht rückgängig machen. Die einzigen Therapiemöglichkeiten besteht in der Entfernung des gelockerten Implantats und der Lockerungsmembran und der anschließenden Implantation einer neuen Endoprothese [KONERMANN AND MÜLLER 1987].

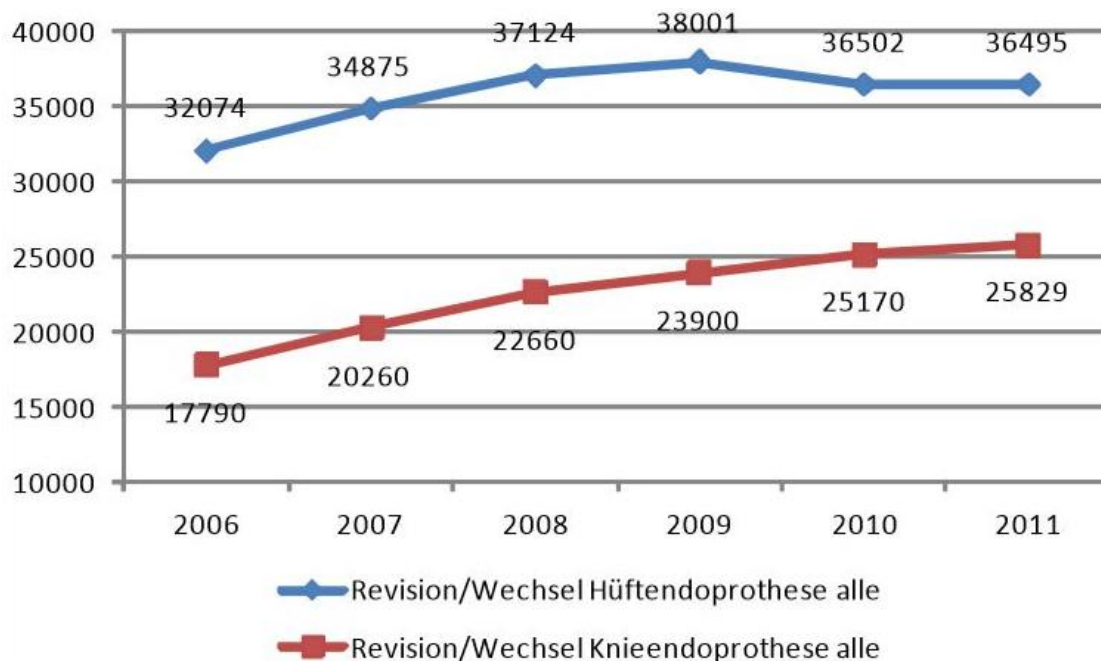


Abbildung 3: Anzahl der Revisions/Wechseloperationen von Hüft- und Knieprothesen in Deutschland [Statistisches Bundesamt 2007-2012]

Bei der Revisionsoperation wird die Lockerungsmembran entfernt und dem Pathologen zur histopathologischen Untersuchung übersandt, um die Lockerungsursache zu klären.

1.3 Die periprothetische Membran

Die periprothetische Membran dient dem Pathologen zur Diagnostik und kann helfen den Grund der Endoprothesenlockerung herauszufinden. Begriffe wie „Lockerungsmembran“, „Abriebmembran“ oder „periprothetische Membran“ werden in der Literatur synonym gebraucht. In der englischsprachigen Literatur hat sich der Begriff „synovial-like interface membrane“, kurz SLIM, durchgesetzt. Neben der periprothetischen Membran kann auch die Gelenkkapsel oder Neokapsel für diagnostische Zwecke genutzt werden. Die Kapsel des Gelenkes hat keinen direkten Kontakt zum Knochen, sondern umhüllt den Gelenkinnenraum. Sie scheint sich trotzdem als diagnostisch wertvoll zu erweisen, da es eine Kommunikation zwischen beiden Geweben zu geben scheint und pathologische Prozesse auch in der Neokapsel erkannt werden können [URBAN, JACOBS, GILBERT, ET AL. 1994]. Während die periprothetische Membran lediglich nach Entfernung des Implantats gewonnen werden kann, kann eine Gewebprobe aus der Neokapsel auch ohne Entfernung des Implantats, zuweilen auch durch einen minimal invasiven arthroskopischen Eingriff gewonnen werden.

Die periprothetische Membran kann bei gelockerten Endoprothesen deutlich dicker als 1mm werden [GOLDRING, SCHILLER, ROELKE, ET AL. 1983]. Sie dient als Grundlage zur Diagnosefindung und wird durch die 2004 eingeführte Konsensusklassifikation [MORAWIETZ, CLASSEN, SCHRÖDER, ET AL. 2006; KRENN, MORAWIETZ, PERINO, ET AL. 2014], die anhand von standardisierten Kriterien routinemäßig angewendet wird, in verschiedene Typen eingeteilt.

Die Konsensusklassifikation kann grundsätzlich sowohl auf die SLIM, als auch auf die Neokapsel angewendet werden [KRENN, MORAWIETZ, PERINO, ET AL. 2014].

Nach der Konsensusklassifikation teilt der Pathologe die periprothetische Membran in vier Typen auf:

- 1) Typ I = abriebinduzierter Typ,
- 2) Typ II = infektiöser Typ,
- 3) Typ III = Mischtyp,
- 4) Typ IV = indifferenter Typ.

Für die vorliegende Arbeit sind insbesondere Membranen vom histologischen Typ I und IV relevant, da es sich bei diesen Typen um aseptische Prozesse handelt. Wie der Name schon sagt, sind bei Typ I Fremdkörperpartikel, die von der Endoprothese abgerieben wurden, histologisch nachweisbar. Die Partikel können durch Abrieb am Endoprothesenlager entstehen und damit Ausdruck des Materialverschleißes sein. Weitere Gründe für den Abrieb von Endoprothesenmaterial sind unphysiologische Anschlags- und Subluxationsphänomene.

Der histologische Typ II beschreibt eine bakterielle Infektion der periprothetischen Membran und tritt bei septischen Endoprothesenlockerungen auf. Typ III vereint die Typen I und II. Es findet sich die Kombination von Abriebpartikeln und Zeichen einer Infektion.

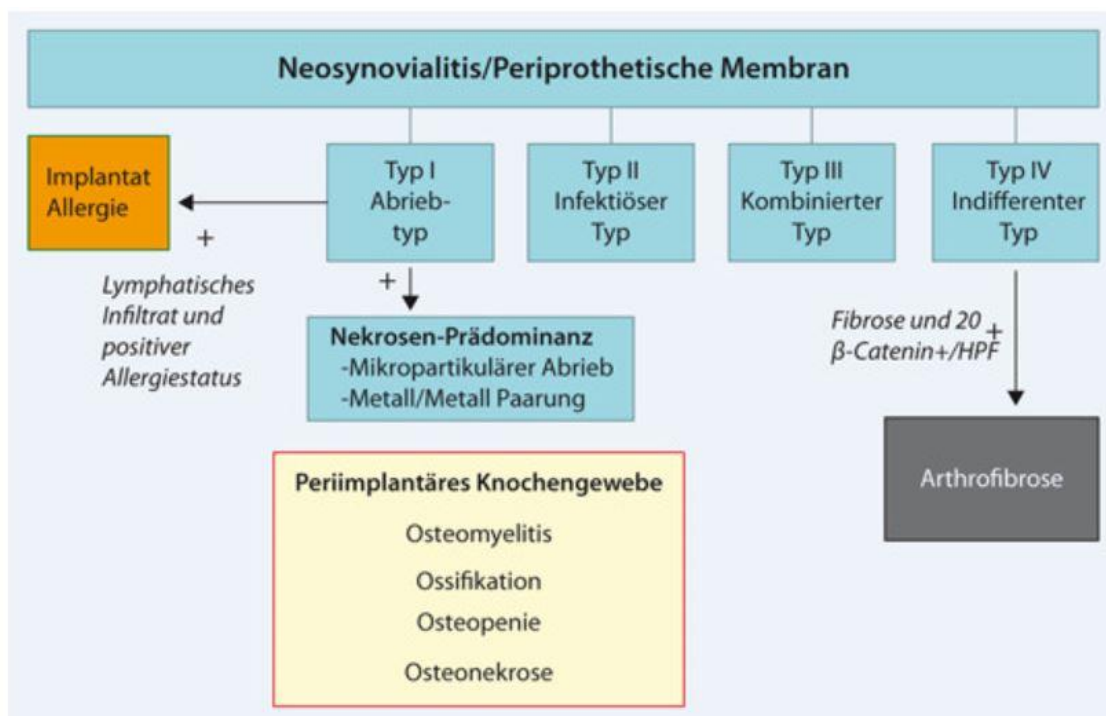


Abbildung 4: Die Konsensusklassifikation [MORAWIETZ, CLASSEN, SCHRÖDER, ET AL. 2006; KRENN, MORAWIETZ, PERINO, ET AL. 2014]

Bei Typ IV finden sich histologisch weder Partikel noch eine Infektion. Dieser Membrantyp tritt sowohl bei der aseptischer Lockerung als auch bei der nicht-partikelinduzierten Arthrofibrose auf. Die nicht-partikelinduzierte Arthrofibrose wird in der erweiterten Konsensusklassifikation nach Krenn et al. als Subtyp von Typ IV beschrieben (Typ V) [KRENN, MORAWIETZ, PERINO, ET AL. 2014]. In der vorliegenden Arbeit wird diese Subkategorisierung nicht berücksichtigt und weiterhin Typ IV verwendet. Typ I tritt mit 55% am häufigsten auf, Typ II + III treten insgesamt zu 25% auf, Typ IV wird in 15% der Fälle gefunden [MORAWIETZ, CLASSEN, SCHRÖDER, ET AL. 2006].

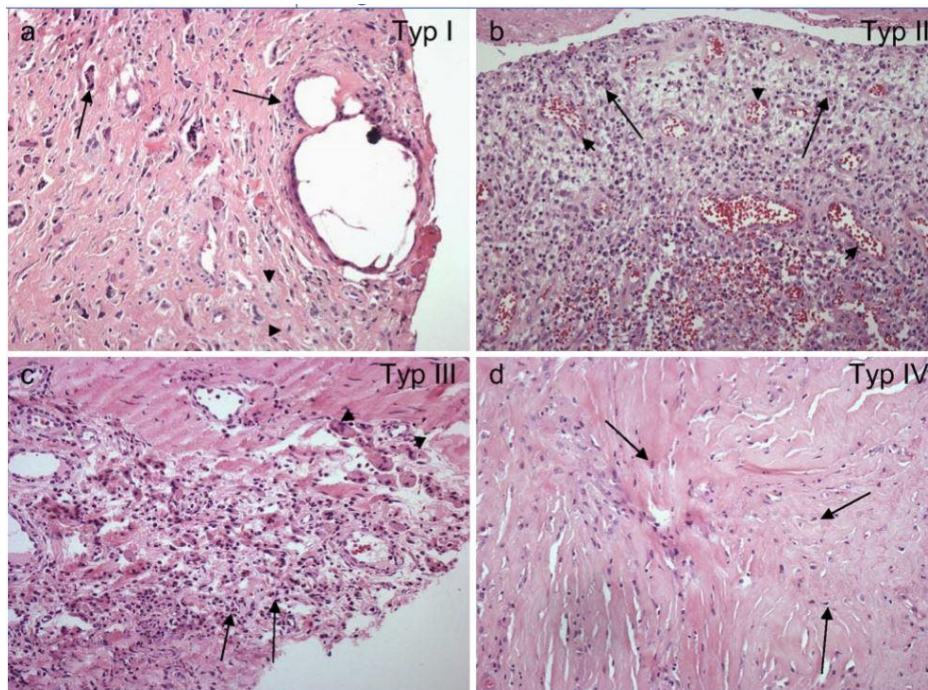


Abbildung 5: Membrantypen I-IV in der HE-Färbung [MORAWIETZ, CLASSEN, SCHRÖDER, ET AL. 2006]:

- a) Pfeile: multinukleäre Riesenzellen mit Hohlräumen durch herausgelöste Abriebpartikel
Pfeilspitzen: Makrophagen
- b) Pfeile: Fibroblasten und neutrophile Granulozyten
Pfeilspitzen: Granulationsgewebe aus Kapillarproliferaten
- c) Pfeile: Granulozyten
Pfeilspitzen: Fremdkörperriesenzellen
- d) Pfeile: Fibrozyten und Fibroblasten

1.4 Funktion und Bedeutung der CD3-positiven T-Lymphozyten bei aseptischer Endoprothesenlockerung

Die Pathogenese der Endoprothesenlockerung ist bislang noch nicht vollständig geklärt [GEHRKE, SERS, MORAWIETZ, ET AL. 2003]. Die aseptische Lockerung einer Endoprothese findet zwischen Implantat und Knochen statt. Die zunächst feste Verbindung wird allmählich durch eine bindegewebige Membran ersetzt, die periprothetische Membran, die das Implantat zunehmend vom Knochen trennt [GOLDRING, SCHILLER, ROELKE, ET AL. 1983; KRENN, KÖLBEL, HUBER, ET AL. 2015; PAP, MACHNER, RINNERT, ET AL. 2001]. Als wesentliche Ursache dieser Membranbildung wird eine lymphozytäre Reaktion auf Abriebpartikel diskutiert [LALOR, REVELL, GRAY, ET AL. 1991; PISTOOR, KAPSENBERG, BOS, ET AL. 1995; WEYAND, GEISLER, BRACK, ET AL. 1998; OTTO, KRIEGSMANN, GEHRKE, ET AL. 2006]. Die Partikel sind ortsständig und können aufgrund ihrer Größe nur in geringen Mengen über das lymphatische System abtransportiert werden [JELL, KERJASCHKI, REVELL, ET AL. 2006]. Die Ansammlung dieser Partikel in den periprothetischen Weichteilen induziert eine Fremdkörperreaktion.

Hierbei scheinen besonders T-Lymphozyten eine wichtige Rolle zu spielen [GRANCHI, CIAPETTI, STEA, ET AL. 1995; VON DOMARUS, ROSENBERG, RÜTHER, ET AL. 2011]. Diese lassen sich in der periprothetischen Membran histologisch nachweisen und können zu einer periprothetischen Osteolyse führen [GEHRKE, SERS, MORAWIETZ, ET AL. 2003; ITONAGA, SABOKBAR, MURRAY, ET AL. 2000]. T-Lymphozyten sind zelluläre Bestandteile des Blutes und eine Untergruppe der Leukozyten. Die T-Lymphozyten bilden einen wichtigen Bestandteil der spezifischen Immunabwehr und nehmen eine bedeutende Funktion bei der Abwehr von Infektionen durch Viren, Pilze oder Bakterien ein. Außerdem sind sie wesentlicher Bestandteil bei der Abwehr von Tumorzellen und spielen eine große Rolle bei allergischen Reaktionen vom verspäteten Typ IV.

Auf ihrer Zelloberfläche tragen die T-Lymphozyten das sogenannte CD3-Antigen, einen Proteinkomplex aus vier Polypeptidketten. Phosphorylierung des CD3-Antigens ist ein wichtiger Aktivierungsmechanismus der T-Lymphozyten. Durch immunhistochemische Verfahren können die CD3-positiven Lymphozyten sichtbar gemacht werden. Es konnte nachgewiesen werden, dass metallische Partikel eine Stimulation der T-Lymphozyten in der periprothetischen Membran hervorrufen können [LALOR, REVELL, GRAY, ET AL. 1991]. Diese krankmachenden Zellreaktionen des Körpers auf Abriebmaterial werden

allgemein als „adverse Reaktionen“ bezeichnet. Des Weiteren konnten neuere Studien beweisen, dass auch andere Fremdkörper wie etwa Polyethylenpartikel eine CD3-Response hervorrufen können [VON DOMARUS, ROSENBERG, RÜTHER, ET AL. 2011]. Generell gilt, dass CD3-positiven Lymphozyten eine zentrale Rolle bei immunologischen und immun-inflammatorischen Prozessen zukommt [WILLERT, BUCHHORN, FAYYAZI, ET AL. 2005; MAHENDRA, PANDIT, KLISKEY, ET AL. 2009; ZUSTIN, AMLING, KRAUSE, ET AL. 2009; PANDIT, GLYN-JONES, MCLARDY-SMITH, ET AL. 2008]. In neueren Untersuchungen findet die Analyse der CD3-positiven Lymphozyten bei entzündlichen Prozessen Anwendung. So fanden Tosco et al. signifikante Steigerung der CD3-Quantität bei Zöliakiepatienten im Vergleich zur Kontrollgruppe [TOSCO, MAGLIO, PAPARO, ET AL. 2015]. Auch bei der lymphozytären Colitis wird die immunhistochemische Darstellung von CD3-Lymphozyten als diagnostisches Hilfsmittel erfolgreich eingesetzt [FIEHN, ENGEL, HOLCK, ET AL. 2016].

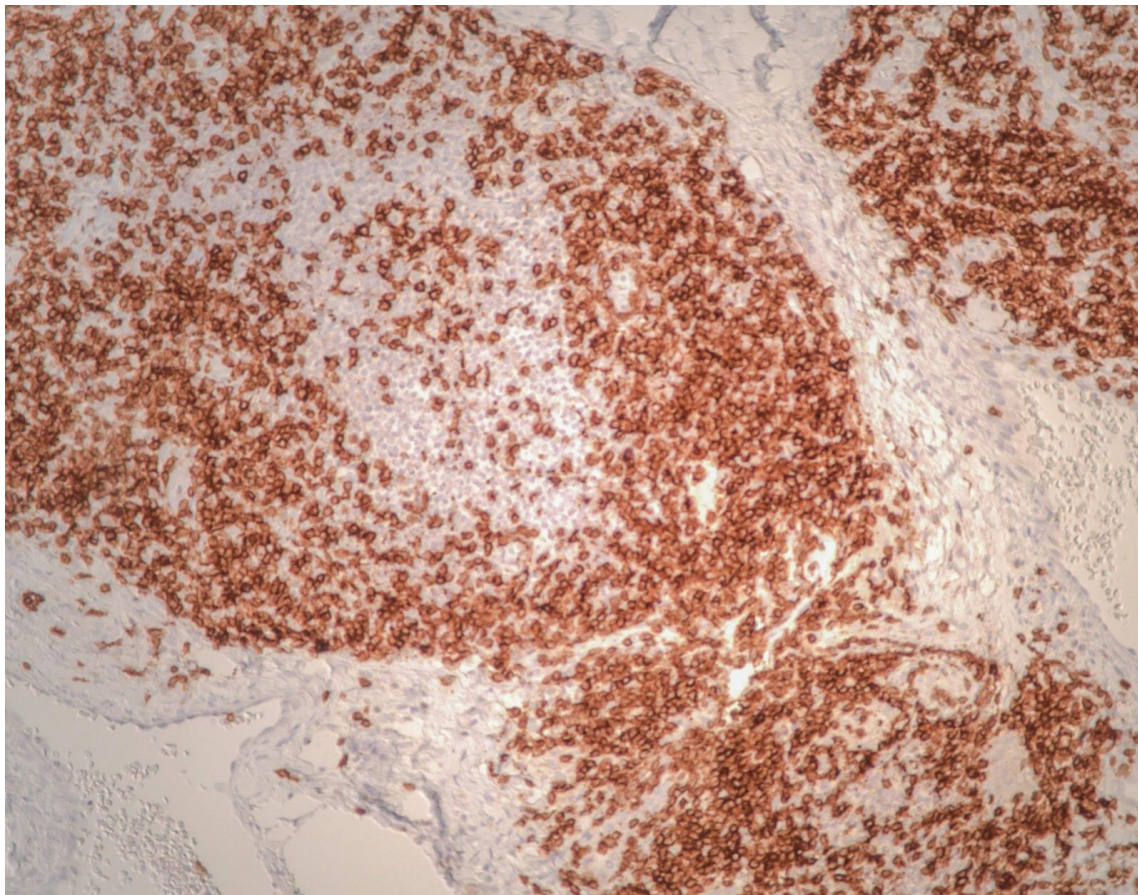


Abbildung 6: Infiltration von CD3-positiven Lymphozyten bei einer Me-Me Gleitpaarung, immunhistochemische Darstellung von CD3-Lymphozyten

1.5 Zementfreie Hüftgelenktotalendoprothesen

Die ersten Hüftendoprothesen waren in Monoblock-Bauweise ausgeführt, das heißt eine aus einem Stück bestehende Metallprothese artikuliert gegen eine Kunststoffpfanne. Schon früh stellte sich heraus, dass sich ein und das selbe Material nicht gleich gut zur Verankerung und als Gleitkörper eignete. Daher sind heutige Hüftendoprothesen modular aufgebaut. Der im Knochen verankerte Teil wird aus einem knochenfreundlichen und biegefesten Material hergestellt. Auf ihn wird dann der Gleitkörper aufgeklemt, der ein möglichst geringes Abriebverhalten aufweist. Eine zementfrei zu implantierende Schaftprothese an der Hüfte besteht beispielsweise aus einer Titanlegierung, in die der Knochen direkt einwächst. Der Kugelkopf der Endoprothese wird dagegen aus Metall oder Keramikmaterial hergestellt, das eine bessere Abriebfestigkeit als Titan besitzt. Bei der zementfreien Pfanne wird als Verankerungsmaterial ebenfalls meist Titan verwendet. Sie hat dann einen Einsatz aus Polyethylen, Keramik oder Metall, der mit dem Kugelkopf der Schaftprothese artikuliert.



Abbildung 7: Aufbau einer zementfreien Zweymüller Hüftendoprothese mit Me-PE Gleitpaarung [Orthopädie, Brüderkrankenhaus Trier]

1.6 Zementierbare Hüftendoprothesen

Die zementfreie Implantation erfordert eine aktive Leistung des Knochens, nämlich das Einwachsen in die Poren der Endoprothese. Der Vorgang verläuft ähnlich wie die Heilung nach einem Knochenbruch. Bei sehr alten Patienten ist diese aktive Leistung des Knochens nicht mehr zu erwarten. Hier kommen zementierbare Implantate zur Anwendung. Ein selbstaushärtender Kunststoff, Polymethylmethacrylat (PMMA), vermittelt die formschlüssige Verbindung zwischen Implantatoberfläche und Knochen, so dass sofort eine hohe Primärstabilität besteht.

Zementierbare Schaftendoprothesen bestehen heute im Allgemeinen aus einer Chrom-Cobalt-Molybdän (Cr-Co-Mo) Legierung. Diese ist sehr dauerhaft und geht eine formschlüssige Verbindung mit dem Knochenzement ein. Titanimplantate haben sich in Verbindung mit zementierbarer Verankerung nicht durchgesetzt. Als Gegenlager im Becken wird eine PE-Monoblockpfanne verwendet, die mit PMMA im Knochen verankert wird. Der Knochenzement nimmt am Gleitverhalten der Endoprothese nicht teil, so dass bei einer stabilen Verankerung keine PMMA-Partikel in der periprothetischen Membran erwartet werden sollten.

Eine Lockerung des Implantats findet im Allgemeinen nicht zwischen Endoprothese und Knochenzement, sondern zwischen Zement und Knochen statt. Möglich ist auch eine Relativbewegung der Endoprothese gegen das Zementlager. In beiden Fällen können Zementpartikel in größerem Ausmaß frei werden, die sich histologisch in der periprothetischen Membran nachweisen lassen. Zu klären bleibt, ob der zusätzliche Anfall von PMMA-Partikeln einen Einfluss auf inflammatorische Prozesse in der periprothetischen Membran hat.

1.6.1 Hybride Endoprothese

Es besteht auch die Möglichkeit, die zementfreie Implantation mit der zementierbaren Implantation zu kombinieren, beispielsweise kann am Becken ein zementfreies Implantat verwendet werden, während die Schaftendoprothese einzementiert wird. Hier

besteht die Möglichkeit zur Modularität. Wird am Becken ein zementierbares Implantat verwendet, handelt es sich heute um eine Monoblock-Pfanne aus PE.

1.7 Gleitpaarung bei Hüftendoprothesen

Die Auswahl der Gleitpaarung ist bei herkömmlichen Endoprothesen also variabel. Bestimmte Endoprothesen wie beispielsweise Oberflächenersatzendoprothesen müssen aus Platzgründen aber weiterhin in Monoblock-Bauweise ausgeführt werden, hier dominiert die Me-Me Kombination.

Es war schon früh bekannt, dass bestimmte Gleitpaarungen verstärkt zu Fremdkörperreaktionen und damit Auslockerung der Endoprothese führen. So kam es beim Einsatz von Polyesterpfannen in Verbindung mit Metallköpfen zu einer aggressiven, toxisch bedingten Gewebsreaktion, die die Standzeiten dieser Endoprothesen auf wenige Jahre beschränkten [RÜTT 1977].

Heutzutage sind diese ungünstigen Gleitpaarungen nicht mehr auf dem Markt. Es dominieren heute folgende Materialkombinationen:

1. Me-Me
2. Ker-Ker
3. Ker-PE
4. Me-PE

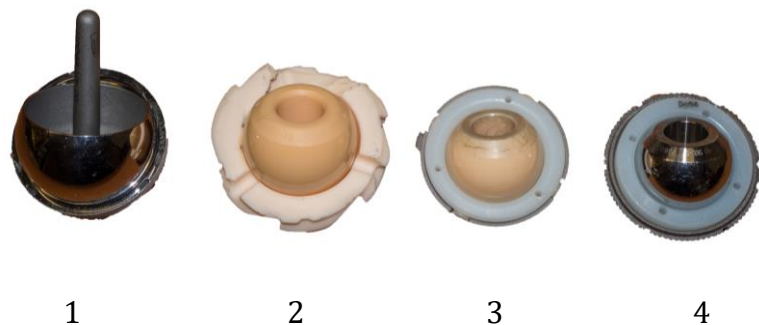


Abbildung 8: Die gängigen Materialpaarungen bei Hüftendoprothesen [Orthopädie, Brüderkrankenhaus Trier]

1.8 Kniegelenksendoprothesen

Kniegelenksendoprothesen gibt es in verschiedenen Ausführungen. Der Operateur wählt das Modell, das zu der zugrundeliegenden Gelenkspathologie am besten passt. Er berücksichtigt die Knochenverhältnisse, eventuelle Achsdeviationen oder Bandinstabilitäten. Bei Arthrosen ohne schwerwiegende Achsfehler oder Bandinsuffizienzen wird heute meistens ein bikondylärer Oberflächenersatz verwendet. Dieser erlaubt eine sparsame Knochenresektion an Femur und Tibia. Auf den Femur wird dann ein Schlitten aufgebracht, dessen Oberfläche einem gesunden Kniegelenk nachempfunden ist. Auf der Tibia wird ein Titanimplantat befestigt, das einen PE-Block trägt, gegen den das Femurimplantat artikuliert. Die Verankerung beider Implantate erfolgt entweder zementfrei oder – in den meisten Fällen – zementiert. Bei fast allen Endoprothesen kommt die Gleitpaarung Me-PE zur Anwendung.



Abbildung 9: *Bikondylärer Oberflächenersatz (Genesis II, Smith&Nephew) des Kniegelenkes [Orthopädie, Brüderkrankenhaus Trier]*

1.9 Arthrofibrose

Die Arthrofibrose ist eine bekannte Frühkomplikation bei Knie- und Schulteroperationen. Dabei kommt es zu einer intraartikulären unkontrollierten Bindegewebswucherung durch Fibroblastenproliferation [ZEICHEN, HAEDER, JAGODZINSKI, ET AL. 2008]. In der Folge kommt es zur Kapselverkürzung mit schmerzhafter Bewegungseinschränkung. Vor allem bei Kreuzbandplastiken und Knie-TEP Revisionsoperationen ist die Arthrofibrose häufig [DEHAVEN, COSGAREA AND SEBASTIANELLI 2003]. Bei Rekonstruktionen des vorderen Kreuzbandes liegt die Inzidenz der Arthrofibrose bei 4-35% [DEHAVEN, COSGAREA AND SEBASTIANELLI 2003]. 10-16% der Knie-TEP Revisionsoperationen gehen auf die endoprothesenassoziierte Arthrofibrose zurück [GOLLWITZER, BURGKART, DIEHL, ET AL. 2006; SHARKEY, LICHSTEIN, SHEN, ET AL. 2014; SHARKEY, HOMESLEY, SHASTRI, ET AL. 2004].

Der Pathologe unterscheidet zwischen einer abriebpartikelinduzierten und einer nicht-abriebpartikelinduzierten Arthrofibrose [KRENN, OTTO, MORAWIETZ, ET AL. 2009]. Bei letzterer sind keine Abriebpartikel in der Gelenkkapsel sichtbar. Nach der Konsensusklassifikation nach Morawietz et al. liegt bei der nicht-partikelinduzierten Arthrofibrose eine Membran vom Indifferenztyp (Typ IV) vor [MORAWIETZ, CLASSEN, SCHRÖDER, ET AL. 2006]. Bei der Arthrofibrose kommt es zu einer schmerzhaften Gelenksteife aufgrund der überschießenden Kollagenproduktion [ZEICHEN, VAN GRIENSVEN, LOBENHOFFER, ET AL. 2000]. Es wird eine konservative Therapie angestrebt, die eher symptomatisch ausgerichtet ist. Meistens wird eine Kombinationstherapie aus Krankengymnastik und antiphlogistischen Medikamenten empfohlen [GOLLWITZER, BURGKART, DIEHL, ET AL. 2006]. Bei Versagen der konservativen Maßnahmen kann aber auch eine operative Ausschneidung der Kapsel nötig sein, um die Gelenkmobilität wiederherzustellen [LOBENHOFFER 1999].

Das Immunsystem zeigt bei einer Arthrofibrose laut einer immunhistochemischen Analyse nach Bosch et al. 2001 eine T-Zell-vermittelte Immunantwort. So ergab die Untersuchung seiner 18 Patienten eine Infiltration durch CD3-positive Lymphozyten [BOSCH, ZEICHEN, SKUTEK, ET AL. 2001]. Er machte keine Angaben darüber, ob Abriebartikel vorliegen oder nicht.

2. Aufgabenstellung

Die lymphozytäre Reaktion in einer Lockerungsmembran und/oder Ersatzkapsel ist mehrfach beschrieben worden. Es ist bekannt, dass metallische Abriebpartikel diese lymphozytäre Reaktion triggern können [LALOR, REVELL, GRAY, ET AL. 1991]. Auch bei Polyethylenpartikeln wurde eine lymphozytäres Infiltrat nachgewiesen [VON DOMARUS, ROSENBERG, RÜTHER, ET AL. 2011]. Offen ist noch die quantitative Reaktion CD3-positiver T-Lymphozyten auf verschiedene Abriebmaterialien in der SLIM.

1. In der folgenden Arbeit wird der Einfluss der unterschiedlichen Abriebpartikel auf die Quantität der CD3-positiven T-Lymphozyten untersucht. Das Hauptziel stellt somit die Analyse der Materialabhängigkeit des CD3-Infiltrates dar. Dazu werden die CD3-positiven Lymphozyten in allen Präparaten mit unterschiedlichen Materialkombinationen gezählt. Die Ergebnisse sollen einen Beitrag zur Erklärung pathologischer Prozesse im periimplantären Gewebe leisten und somit zum Verständnis von unerwünschten partikelassoziierten inflammatorischen und immunologischen Reaktionen in Zusammenhang mit Gleitpaarungsmaterialien beitragen. Zum Vergleich soll die CD3-Infiltration von Typ IV Membranen untersucht werden, welche definitionsgemäß keine Partikeldepositionen aufweisen.
2. Des Weiteren soll untersucht werden, ob bei einer nachgewiesenen Kontaktallergie auf das verwendete Implantatmaterial eine erhöhte CD3-Quantität im Vergleich mit analogen Fällen ohne positiven Allergietest vorliegt.
3. Während der Untersuchung der Präparate fielen Fälle mit extrem großen Polyethylenpartikeln auf, sogenannte Supramakropartikel [KRENN, HOPF, THOMAS, ET AL. 2016]. Bei diesen Fällen soll untersucht werden, ob sich die mittlere Endoprothesenstandzeit verglichen mit der Kontrollgruppe ohne Supramakropartikel unterscheidet.

4. Um den Zeitaufwand bei der Auszählung der Präparate zu verringern, soll versucht werden, zusammen mit VmScope GmbH aus Berlin eine Software zu entwickeln („CD3-Quantifier“), die eine computergestützte Quantifizierung erlaubt.

3. Material und Methode

3.1 Patientenkollektiv

Untersucht wurden insgesamt 249 Präparate eingeteilt in zwei Kollektive aus den Jahren 2008-2015. Das Hauptkollektiv von 222 Patienten setzt sich aus 92 Männern und 130 Frauen im Alter von 37-92 Jahren zusammen. Bei 186 Fällen handelt es sich um eine partikelinduzierte Endoprothesenlockerung mit Typ I SLIM. 112 Präparate stammen aus der Hüfte, 74 aus dem Knie. Bei 36 Fällen lag eine Gelenkkapsel vom histologischen Typ IV vor. Diese Fälle stammen alle aus dem Knie. Die Standzeiten der Endoprothesen lagen zwischen 3-312 Monaten. Bei allen eingesandten Präparaten handelt es sich um Fälle von Gelenkendoprothesenversagen. Das sind einliegende Gelenkendoprothesen mit schwergradiger Symptomatik, welche die Grundlage für einen revisionsendoprothetischen Eingriff dargestellt haben.

Wichtige Voraussetzung für die Aufnahme in die Untersuchung war, dass keine bakterielle Infektion vorlag. Der Grund für die Endoprothesenlockerung musste eine aseptische Lockerung sein. Eine Infektion wurde sowohl histopathologisch als auch mikrobiologisch ausgeschlossen. Ausgeschlossen wurden außerdem Patienten mit rheumatischer Grunderkrankung. Die Gewebeentnahme erfolgte bei der Revisionsoperation der gelockerten Endoprothese. Die Typ IV Fälle entstammten zum größten Teil der Revisionsoperation von Arthrofibrosepatienten. 11 Präparate mit Typ IV SLIM entstammten auch aus Endoprothesenlockerungen.

Nach der histopathologischen Aufbereitung des Gewebes und der anschließenden HE-Färbung wurden die 222 Fälle nach Materialkombinationen der Gleitpaarungen eingeteilt. Mit Hilfe des Partikelalgorithmus nach Krenn [KRENN, THOMAS, THOMSEN, ET AL. 2014a] konnten die verschiedenen Partikel der Präparate identifiziert und entsprechend sortiert werden. Außerdem gaben der Operationsbericht und/oder der Prothesenpass des Patienten Aufschluss auf die verwendete Gleitpaarung.

Die erste Gruppe (n=49) bildeten Fälle mit Me-Me Gleitpaarung. Bei der zweiten Gruppe (n=115) waren hauptsächlich Polyethylenpartikel in der SLIM nachweisbar, hervorgerufen durch eine Me-PE Gleitpaarung. Bei der dritten Gruppe (n=14) konnten ausschließlich Keramikpartikel aufgrund einer Ker-Ker Gleitpaarung nachgewiesen werden. Die vierte Gruppe (n=44) umfasste Ker-PE Gleitpaarungen. Metall-Keramik Gleitpaarungen werden nur sehr selten verwendet und tauchen deshalb nicht in dem Kollektiv auf. Die fünfte Gruppe bildeten 25 Fälle von Arthrofibrose, bei denen keine Partikel nachgewiesen werden konnten. Dies entspricht der Typ IV SLIM der Konsensusklassifikation [MORAWIETZ, CLASSEN, SCHRÖDER, ET AL. 2006; KRENN, MORAWIETZ, PERINO, ET AL. 2014]. Die Gruppen 1-4 entsprechen dem Typ I der Konsensusklassifikation.

Ein weiteres unabhängiges Nebenkollektiv bildeten 27 Präparate mit besonders großen Polyethylenpartikeln, sogenannten Supramakropartikeln. Diese wurden mithilfe des Leica DM 2500 Mikroskop und der Leica Application Suite (Leica, Wetzlar) Software vermessen.

Eine besondere Gruppe bilden 11 Patienten, bei denen ein positiver kutaner Allergiefund auf die verwendete Materialpaarung vorlag. Außerdem wurden bei diesen Fällen keine Partikel gefunden (Membran Typ IV).

Sämtliche Proben wurden im Rahmen der histopathologischen Diagnostik bearbeitet und anschließend anonymisiert. Die histochemischen Methoden wurden in einem zertifizierten und akkreditierten Rahmen durchgeführt. Der Qualitätsstandard erfolgte nach der DIN ISO/IEC 17020.

3.1.1 Einhaltung ethischer Richtlinien

Diese Arbeit beinhaltet keine Studien an Menschen oder Tieren. Unter der Bearbeitungsnummer 837.304.14 (9534) liegt ein positives Votum der Ethikkommission der Landesärztekammer Rheinland-Pfalz Mainz vor, insbesondere, dass keine berufsethischen und berufsrechtlichen Bedenken bestehen.

3.2 Aufarbeitung der Gewebe

Das übersandte Gewebe wird in 4%igem Formalin gepuffert und zu Scheiben geschnitten, die maximal 0,5cm dick sind. Anschließend werden die Scheiben in einer Kunststoffkassette für 24-48 Stunden in 4% gepuffertem Formalin fixiert. Dabei ist es wichtig, dass kein höherprozentiges Formalin verwendet wird, da dies die Kernfärbung verschlechtert. Nach der Entwässerung durch ein geschlossenes Entwässerungsgerät (Peloris SOP 8204, Leica, Wetzlar) unter Vakuum und Wärme über eine aufsteigende Ethanolreihe und Xylol als Intermedium folgt die Paraffineinbettung über Nacht. Danach werden die Schnitte zu einer Dicke von ca. 1-3 µm zugeschnitten (Rotationsmikrotom Hyrax M40, Zeiss, Oberkochen; Messer A35, Feather, Osaka, Japan) und anschließend auf entfettete Objektträger aufgezogen (Objektträger Superfrost entfettet und geschnitten, Menzel, Braunschweig) und für 10-15 Minuten bei 70 °C im Wärmeschrank (function line, Firma Heraeus, Hanau) abgeschmolzen. Abschließend werden die Objektträger in Xylol entparaffiniert und mit einer absteigenden Alkoholreihe rehydriert.

3.2.1 Protokoll der HE-Färbung

Die HE-Färbung erfolgt vollautomatisch durch das Leica ST 4040 Färbemodul. Zuerst werden die Objektträger deparaffiniert (durch Xylol und eine Ethanolreihe) und mit Leitungswasser gespült, dann beginnt die Kernfärbung. Die Objektträger werden 4-mal für 2 Minuten in Hämatoxylin nach Harris (Hämatoxylin nach Harris, Surgipath, Richmond, Illinois, USA) eingetaucht. Beim nächsten Schritt werden die Kerne mittels Eintauchen für jeweils 2 Minuten in 70%iges Ethanol und 25%ige Salzsäure gebläut, gefolgt von erneutem Spülen mit Leitungswasser. Anschließend erfolgt die Hintergrundfärbung mit Eosin (Eosin Y, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) für insgesamt 4 mal 2 Minuten. Danach werden die Schnitte durch eine aufsteigende Ethanolreihe geführt und 3-mal für jeweils 2 Minuten in Xylol eingetaucht. Zuletzt werden die Schnitte mithilfe des Eindeckautomaten (CV5030, Leica, Wetzlar) unter Verwendung eines Eindeckmittels (Fixogum Fotokleber eingedeckt). Als letztes wird ein Deckglas auf den Schnitt geklebt.

3.2.2 Protokoll der immunhistochemischen Darstellung von CD3-Lymphozyten

Die Darstellung von CD3-Lymphozyten wird durch immunhistochemische Färbung möglich gemacht. Das bedeutet, dass durch gefärbte Antikörper bestimmte zelluläre Strukturen sichtbar gemacht werden können [RAMOS-VARA AND MILLER 2014]. Die immunhistochemische Darstellung von CD3-Lymphozyten erfolgt in einem vollautomatisierten Färbesystem (BenchmarkXT, ICH Slide Stainer der Marke Roche, Ventana medical Solution).

3.2.3 Protokoll der PAS-Färbung

Die PAS-Färbung wird auch vollautomatisch mittel Leica ST4040 Färbemodul durchgeführt. Glykogenhaltige Bereiche der Zellen werden rot gefärbt. Als erstes werden die Schnitte durch Xylol behandelt, dann durch eine absteigende Ethanolreihe geführt. Es folgt noch eine anschließende Färbung mit Hämalaun nach Mayer. Als letztes werden die Schnitte für 10 Minuten in 96% Isopropanol fixiert.

3.2.4 Protokoll der Berliner Blau Reaktion und Öl-Rot-Färbung

Die Berliner-Blaureaktion wird vollautomatisch mit dem Leica ST 4040 Färbemodul durchgeführt. Die Öl-Rot-Färbung wird manuell in 13 Schritten durchgeführt.

3.3 Partikelalgorithmus nach Krenn et al. (2014)

Um die Vielfalt an partikulärem Material histopathologisch zu definieren, wurde 2013 ein histopathologischer Partikelalgorithmus erarbeitet [KRENN, THOMAS, THOMSEN, ET AL. 2014a]. Durch diesen können Partikel nach lichtmikroskopisch-morphologischen Charakteristika, polarisationsoptischen Eigenschaften und enzymhistochemischen Charakteristika in der Öl-Rot-Färbung und der Berliner-Blau-Reaktion differenziert werden. Der Partikelalgorithmus kam bei der vorliegenden Arbeit zur Bestimmung der Partikel zur Anwendung. Der histologische Partikelalgorithmus fasst die lichtmikroskopischen und enzymhistochemischen Qualitäten von Abrieb- und nicht-Abriebpartikeln zusammen und erlaubt so eine Wertigkeit der Partikelidentifikation.

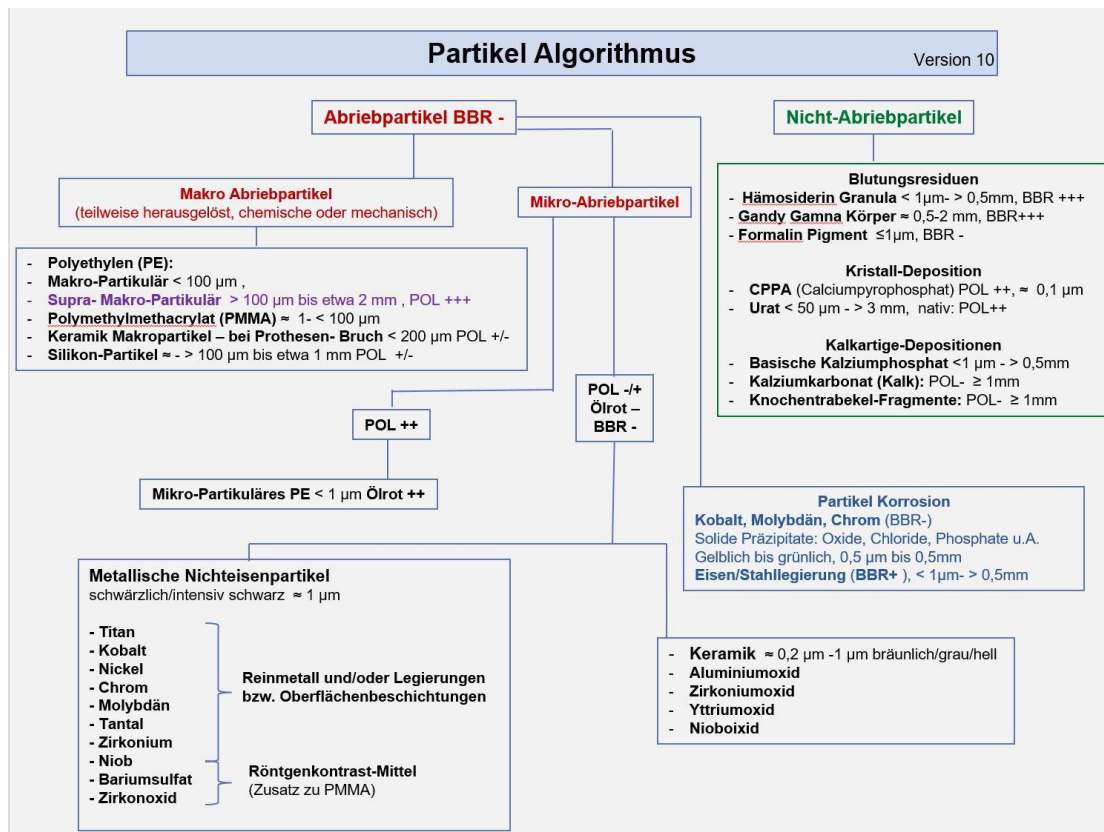


Abbildung 10: Der Partikelalgorithmus (Version 10) [KRENN, HOPF, THOMAS, ET AL. 2016]

Die Charakterisierung der Partikel erfolgt in den folgenden 3 Kriterien:

- „1) Lichtmikroskopisch-morphologische Charakteristika mit einer orientierenden Bestimmung von Größe, Form und Farbe,
- 2) Polarisationsoptische Eigenschaften,
- 3) enzymhistochemischen Charakteristika in der Öl-Rot-Färbung [HANSEN, OTTO, BUCHHORN, ET AL. 2002] und der Berliner-Blau-Reaktion [KRENN, THOMAS, THOMSEN, ET AL. 2014a].“

Der Partikelalgorithmus ersetzt nicht hochauflösende Verfahren wie den energy dispersive x-ray (EDX) und/oder der Fourier transform infrared microspectroscopy (FTIR) [KRETZER, ZIETZ, SCHRÖDER, ET AL. 2012]. Die Charakterisierung erfolgt in HE-Schnittpräparaten der SLIM.

3.3.1 Polyethylenpartikel

PE ist der weltweit häufigste thermoplastische Kunststoff, der vor allem bei der Herstellung von Verpackungen Anwendung findet. In der Endoprothetik wird ein besonders hochmolekulares PE (UHMW-PE) verwendet. Durch die langen Molekülketten werden die Materialeigenschaften verbessert. Durch radioaktive Bestrahlung können die Molekülketten quervernetzt und das Abriebverhalten noch verbessert werden. Je nach Vernetzungsgrad



Abbildung 11: PE-Partikel einer Me-PE Gleitpaarung in der polarisationsoptischen Analyse,

liegen unterschiedliche Partikelformen vor [OTTO, KRIEGSMANN, GEHRKE, ET AL. 2006; WOLFARTH, HAN, BUSHAR, ET AL. 1997]: Die Mehrzahl der Abriebpartikel von hochvernetzten Polyethylenen sind mikropartikulär, die Mehrzahl der Abriebpartikel von nicht hochvernetzten Polyethylenen sind makropartikulär [KRENN, THOMAS, THOMSEN, ET AL. 2014a]. Als makropartikulär werden Partikel bezeichnet, die größer als 5µm sind. Mikropartikuläre Partikel besitzen eine Größe kleiner als 5µm. Durch ihre polarisationsoptischen Eigenschaften sind PE-Makropartikel sehr einfach zu erkennen (siehe Bild). Zur eindeutigen Identifikation der Mikropartikel eignet sich am besten die Öl-Rot Färbung. In der HE-Färbung können PE-Partikel nur indirekt nachgewiesen werden [OTTO, KRIEGSMANN, GEHRKE, ET AL. 2006].

3.3.2 Nichteisenmetallpartikel

Nichteisenmetalle nehmen eine bedeutende Stellung in der Gelenkendoprothetik ein. Neben reinen Me-Me Gleitpaarungen existieren auch Me-PE und Me-Ke Gleitpaarungen. Um die physikalischen Eigenschaften reiner Metalle zu verbessern, werden verschiedene Nichteisenmetalle miteinander legiert. Die am häufigsten verwendete Legierung ist die Chrom-Cobalt-Molybdänlegierung (Cr-Co-Mo), die neben der Endoprothetik beispielsweise in der Zahnmedizin Anwendung findet. Der Abrieb der Nichteisenmetalle ist mit einer Größe von 0,05 µm bis 3,9 µm sehr feinkörnig [KUBO,

SAWADA, HIRAKAWA, ET AL. 1999]. Die Farbe variiert von grau bis schwarz, die Form von rund bis scharfkantig.

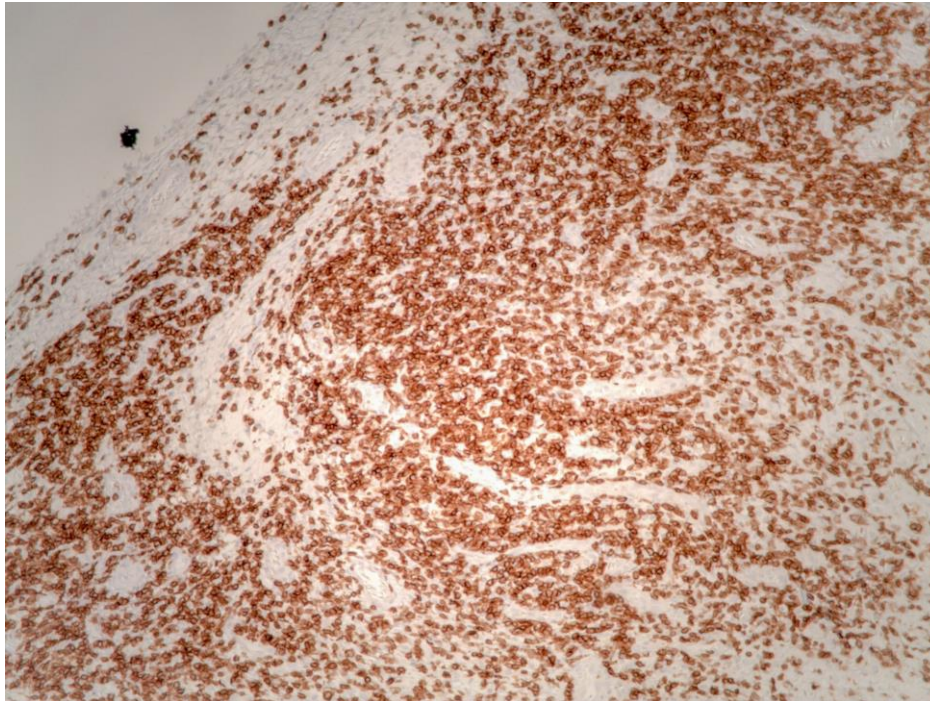


Abbildung 12: Metallpartikel in der SLIM mit hoher CD3-Quantität, immunhistochemische Darstellung von CD3-Lymphozyten

3.3.3 Knochenzementpartikel

Da vor allem bei älteren Patienten die Osteointegration einer zementfreien Endoprothese nicht befriedigend gelingt, wird Knochenzement zwischen Endoprothese und Knochen eingebracht. Nach Aushärtung besteht dann eine stabile, formschlüssige Verbindung. Die Grundsubstanz von Knochenzement besteht aus Polymethylmethacrylat. Außerdem sind ihm bestimmte Stoffe zugesetzt (Katalysator, Initiatoren, Farbe, Antibiotika, Röntgenkontrastmittel). Da Knochenzement an der Reibung der Gleitpaarung nicht teilnimmt, sind primär keine PMMA-Partikel in der SLIM zu erwarten. Bei lockeren Prothesen kann es im Interface zwischen Zement und Knochen zu Mikrobewegungen, die Zementpartikel erzeugen, welche in der SLIM verharren.

Im HE-Schnittpräparat können PMMA-Partikel lediglich indirekt erkannt werden, da sie durch die chemische Aufbereitung aus den Riesenzellen herausgelöst werden. Zurück

bleibt aber beispielsweise das Röntgenkontrastmittel Zirkondioxid, welches als schwarze, traubenförmige Mikropartikel identifiziert werden kann.

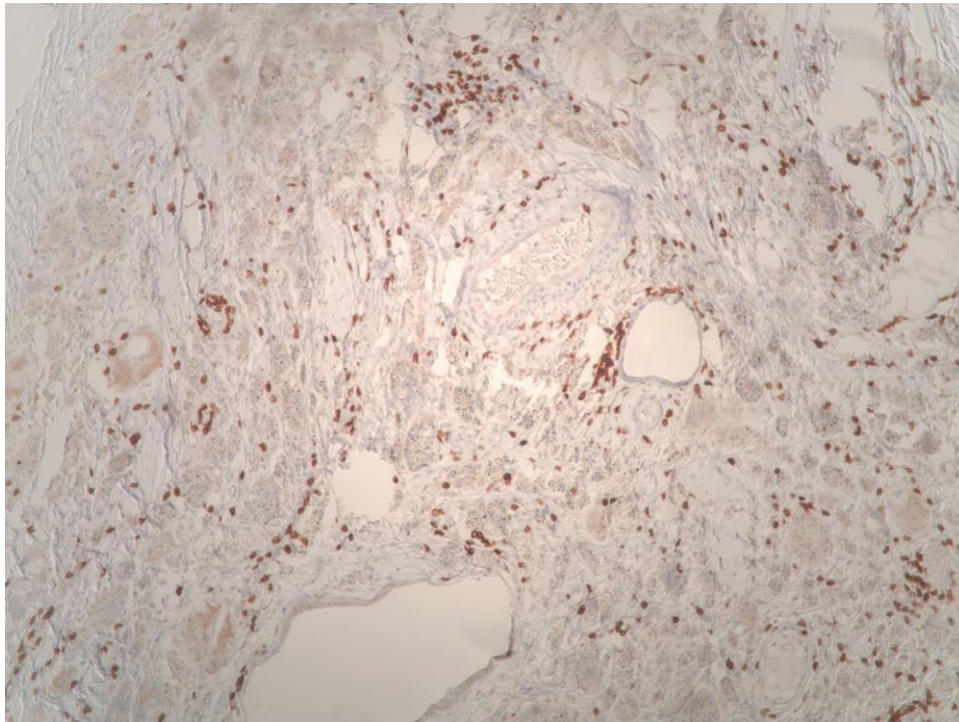


Abbildung 13: *CD3 an PMMA Partikeln einer zementierten Me-PE Endoprothese (PMMA befand sich in den Riesenzellen, wurde bei der Gewebeprozessierung herausgelöst), immunhistochemische Darstellung von CD3-Lymphozyten*

3.3.4 Keramikpartikel

Keramik gilt als moderner, sogenannter hypoallergener Werkstoff und wird in drei Kombinationen in der Endoprothetik benutzt:

1. Ker-Ker Gleitpaarungen
2. Ker-PE Gleitpaarungen
3. Ker-Me Gleitpaarungen

In der Endoprothetik werden nur Hochleistungskeramiken wie die Oxidkeramiken Aluminiumoxid oder Zirkondioxid verwendet. Während die meisten der Keramik-Abriebpartikel so klein sind, dass sie erst unter dem Rasterelektronenmikroskop sichtbar werden, entstehen beispielweise beim Endoprothesenbruch Makropartikel. Die Partikel sind meistens schwarz, können aber auch bräunlich gefärbt sein. Sie besitzen

Ähnlichkeit zu Metallpartikeln und können nur durch energy dispersive x-ray (EDX) und/oder die Fourier transform infrared microspectroscopy (FTIR) sicher unterschieden werden.

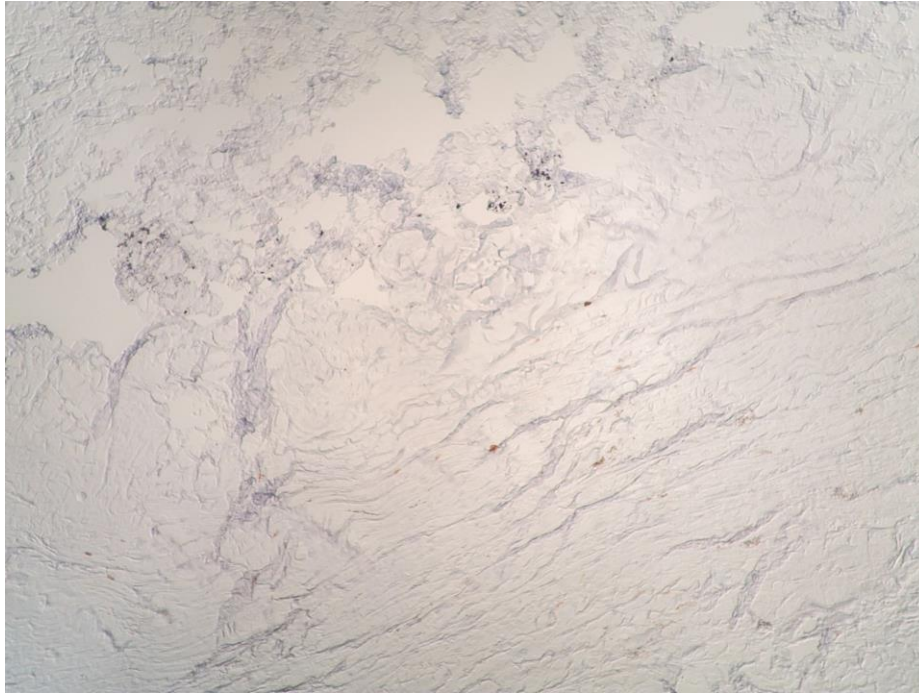


Abbildung 14: Keramikpartikel (schwarz) mit geringer lymphozytärer Reaktion bei Ker-Ker Gleitpaarung, immunhistochemische Darstellung von CD3-Lymphozyten

3.4 Die Konsensusklassifikation

In der vorliegenden Arbeit bildete die Konsensusklassifikation nach Morawietz, Krenn et al. die Grundlage zur Einteilung der Gewebe [KRENN, MORAWIETZ, PERINO, ET AL. 2014; MORAWIETZ, CLASSEN, SCHRÖDER, ET AL. 2006]. Membranen des histologischen Typs II und III wurden gezielt aussortiert, da eine aseptische Genese Ursache der Lockerung sein musste. 186 Präparate haben eine Membran Typ I, 36 Präparate einen Membran Typ IV.

3.4.1 Abriebinduzierter Typ (Typ I)

Im Bindegewebe sind neben Makrophagen viele multinukleäre Riesenzellen zu sehen. Makrophagen nehmen die mikropartikulären Fremdmaterialien auf, Makropartikel befinden sich eher in den Riesenzellen [KRENN, KRETZER, THOMAS, ET AL. 2013].

3.4.2 Indifferenten Typ (Typ IV)

Beim indifferenten Typ sind kaum oder keine Partikel histologisch sichtbar. Er tritt zu circa 15 % auf [MORAWIETZ, CLASSEN, SCHRÖDER, ET AL. 2006]. Es dominiert kollagenfaserreiches Bindegewebe. Die Pathogenese der Endoprothesenlockerung beim indifferenten Typ ist noch nicht geklärt. Außerdem ist dieser Membrantyp noch bei der nicht-partikelinduzierten Arthrofibrose zu beobachten.

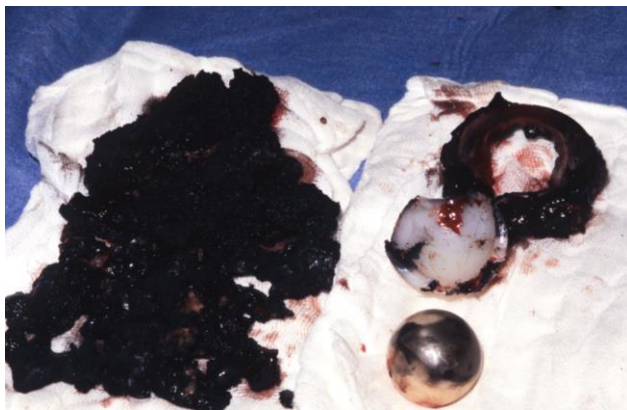


Abbildung 15: Schwere Metallose bei einer entfernten periprothetischen Membran. Bei dieser Ker-PE Gleitpaarung hat der Prothesenkopf das PE-Inlay durchgeschliffen und dann gegen den Titankorb der Pfanne artikuliert (gleicher Fall wie Abbildung 21). [Orthopädie, Brüderkrankenhaus Trier]

3.5 Untersuchungsmethode

Die mikroskopische Befundung der Präparate erfolgte mit dem Leica DM 2500 Durchlichtmikroskop von vollautomatisch eingefärbten HE-Präparaten. Nach Einteilung nach histologischem Typ und Charakterisierung der Partikel nach dem Partikelalgorithmus nach Krenn et al. [KRENN, THOMAS, THOMSEN, ET AL. 2014a] konnten die CD3-Schnitte quantifiziert werden.

Zuerst wurden die CD3-positiven Lymphozyten durch immunhistochemische Methoden angefärbt. Die Quantifizierung der CD3-positiven Lymphozyten erfolgte nach dem Prinzip der fokalen Maximalinfiltration („worst area grading“): Dabei wird der zellreichste Abschnitt des Präparates aufgesucht und mit einer vorher definierten Vergrößerung mikroskopiert [KRENN, MORAWIETZ, BURMESTER, ET AL. 2006; SCHOLZEN AND GERDES 2000]. Dabei muss der gesamte Bildbereich durch das Präparat ausgefüllt sein. In der vorliegenden Arbeit wurden alle Präparate unter dem 20er-Objektiv betrachtet, das gibt eine gesamte Vergrößerung von 200x (Objektiv x Tubusfaktor x Okularfaktor). Das Bildfeld entspricht 0,3 mm². Bei hohen Zellanzahlen über 500 CD3-positiven Lymphozyten wurde zur vereinfachten Auszählung das Leica DM 2500 Mikroskop mit der Leica DFC290-Kamera (Leica, Wetzlar) benutzt. Die Auszählung konnte über Adobe Photoshop (Adobe Systems, San José, USA) am PC vorgenommen werden.

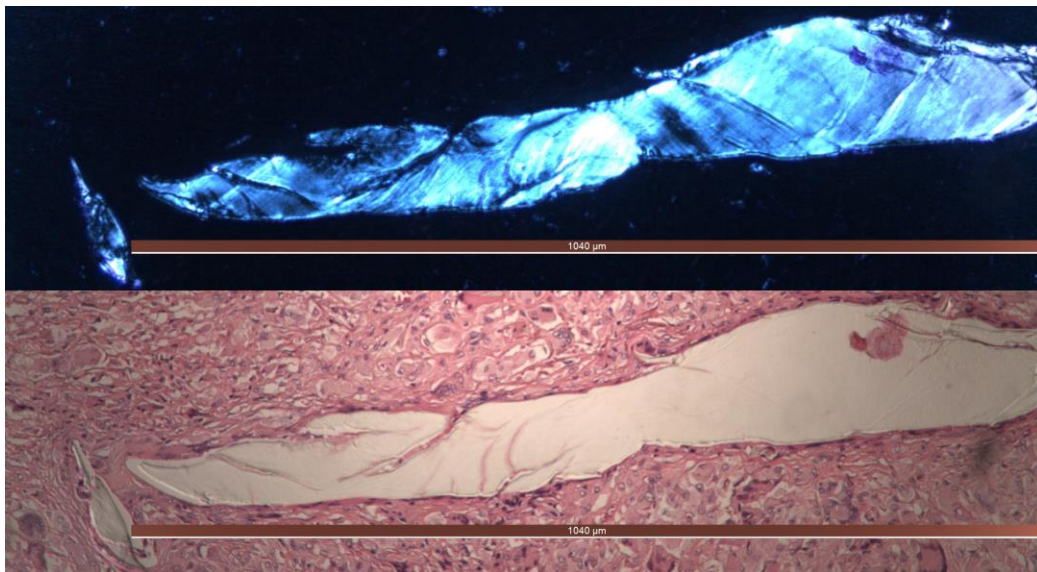


Abbildung 16: Supramakropartikel in einer Typ I SLIM mit einer Größe von circa 1040 μm (oben in der polarisationsoptischen Analyse), HE-Färbung

Die Ausmessung von supramakropartikulärem Polyethylen erfolgte ebenfalls durch das Leica DM 2500 Durchlichtmikroskop mit der Leica DFC290-Kamera und der Leica Application Suite (Leica, Wetzlar).

Während die Zählungen bei Präparaten mit CD3-positiven Lymphozyten bis circa 500 Zellen noch exakt gelingen, ist bei extrem hohen Zellzahlen mit Zählfehlern durch Überlagerung von mehreren Zellen zu rechnen.

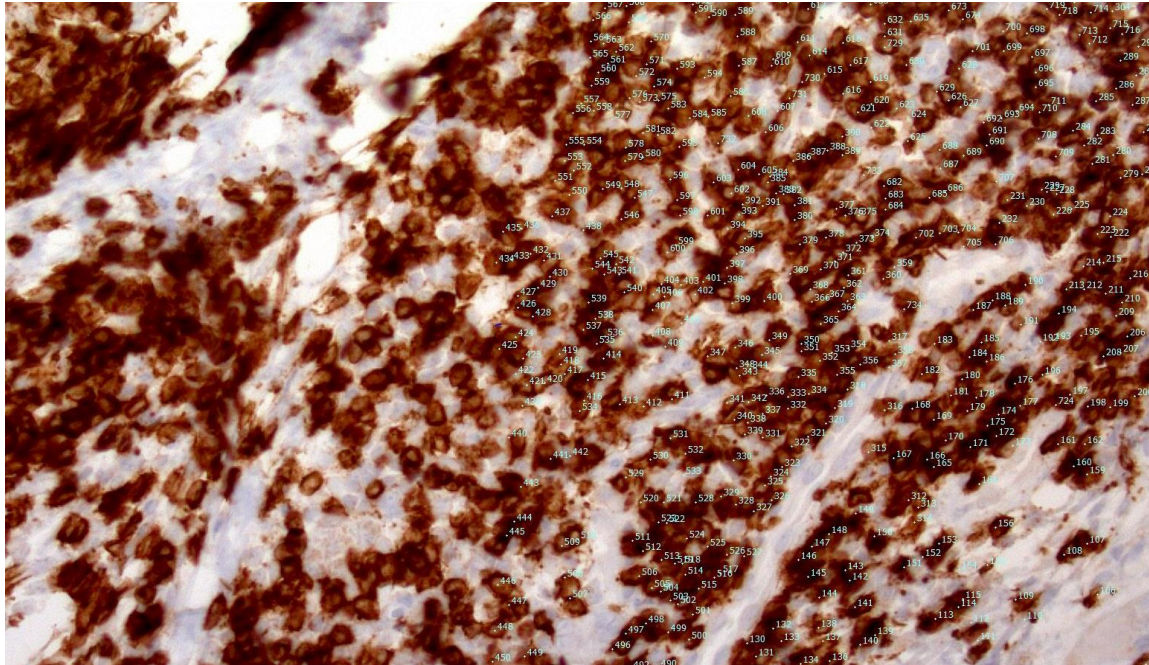


Abbildung 17: Bei hoher CD3-Quantität wird jede einzelne Zelle manuell am PC markiert, um Mehrfachzählungen zu vermeiden.

3.6 Computergestützte Quantifizierung

Da die Auszählung der Präparate mit erheblichem Zeitaufwand verbunden war, wurde versucht, zusammen mit VmScope GmbH aus Berlin eine Software zu entwickeln, die eine computergestützte Quantifizierung erlaubt. Der schon entwickelte CD15-Quantifier sollte die Grundlage für den CD3-Quantifier bilden. Eine Auswahl von 30 digitalisierten Präparaten (10 mit geringer, 10 mit mittlerer und 10 mit hoher CD3-Quantität) wurde nach Berlin geschickt, wo die Entwicklung des CD3-Quantifiers begann. Es wurden 2 Versionen des Quantifiers getestet. Eine frühe Alpha Version (Version 0.9) und dann die finale Version (Version 1.0).

22

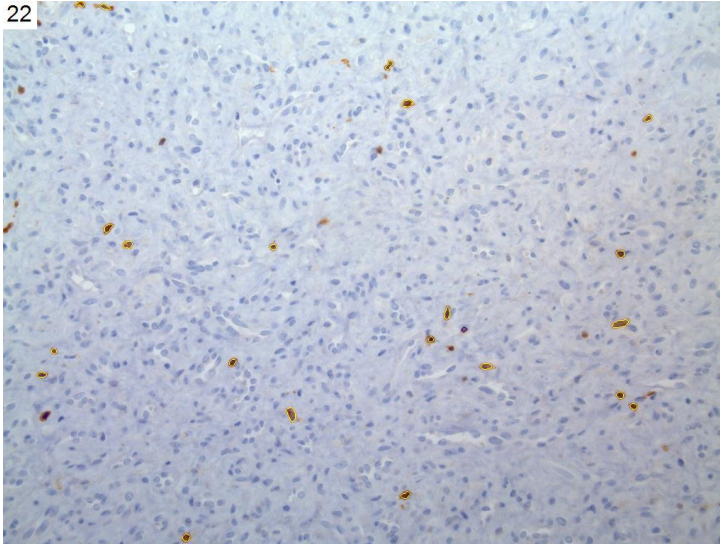


Abbildung 18: CD3-Quantifier bei geringer Zelldichte: Die gelben Umrandungen markieren die Zellen, die der Computer als Zelle erkannt hat. Bis auf wenige Zellen hat der Computer korrekt gearbeitet.

513

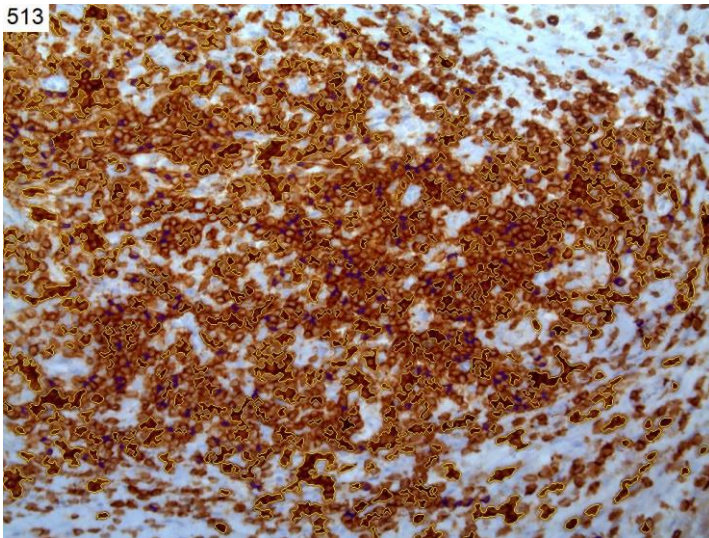


Abbildung 19: CD3-Quantifier bei hoher Zelldichte: Hier fasst der Computer viele nah beieinanderliegende Zellen als eine große auf oder „erkennt“ konfluente Zellen nicht.

Der Algorithmus des CD3-Quantifiers differenziert zwischen „Zelle“ und „Hintergrund“. Durch spezielle Kontrastunterscheidung wird dies möglich gemacht. Bei weit auseinanderliegenden Zellen ist diese Differenzierung noch recht einfach. Bei eng angrenzenden Zellen werden oft mehrere Zellen als eine große detektiert (siehe Bild).

3.7 Statistische Methoden

Die statistischen Auswertungen und Darstellung der Grafiken wurde mit der frei erhältlichen Programmiersprache R (The R Foundation for statistical Computing; Version 3.1.1, General Public License; [The R Project] – www.r-project.org) erstellt.

Zur grafischen Darstellung wurden Boxplots, Scatterplots und Balkendiagramme verwendet. Zur Überprüfung der Signifikanz (p-Wert) wurden neben „student´s t-tests“, „welch´s t-tests“ und dem „Chi-Quadrat-Test“ auch lineare Regressionen und eine Varianzanalyse (ANOVA: „analysis of variance“) angewendet.

In der vorliegenden Arbeit werden folgende Signifikanzabstufungen verwendet:

1. $P < 0.05$ entspricht „signifikant“
2. $P < 0.01$ entspricht „sehr signifikant“
3. $P < 0.001$ entspricht „hochsignifikant“

4. Ergebnis

4.1 Beschreibung der Daten

Im Rahmen dieser Studie wurden insgesamt 249 Gewebeproben von verschiedenen Patienten eingeteilt in 2 Kollektive untersucht. Das Hauptkollektiv umfasste 222 Patienten. 130 der Patienten waren weiblich, 92 männlich. 114 Gewebeproben stammten aus der Hüfte und 108 aus dem Knie. Die Patienten lassen sich je nach Es ergaben sich folgende Gleitpaarungen:

Gleitpaarung	n
Ker-Ker	14
Ker-PE	44
Me-Me	49
Me-PE	115
gesamt	222

Tabelle 1: Anzahl der verschiedenen Gleitpaarungen im Hauptkollektiv (n=222).

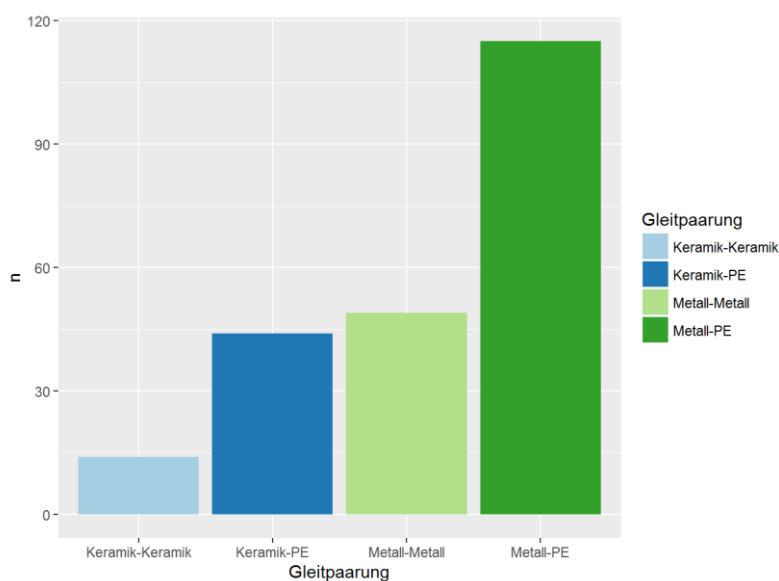


Abbildung 20: Anzahl der verschiedenen Gleitpaarungen im Hauptkollektiv (n=222).

Wie man sowohl an der Tabelle als auch am Graph erkennen kann, kamen nicht alle Materialkombinationen gleich häufig vor. Die die Anzahl der Me-PE Gleitpaarungen überwiegt deutlich, gefolgt von Me-Me und Ker-PE Gleitpaarungen. Ker-Ker Gleitpaarungen waren in der untersuchten Patientengruppe am seltensten. Dies liegt an ihrer noch relativ geringen Verbreitung.

Die Me-PE Gruppe lässt sich in zwei Gruppen unterteilen:

1. 83 Fälle mit Typ I Membran
2. 32 Fälle mit Typ IV Membran

In der Me-Me Gruppe gab es auch 2 Fälle mit histologischem Typ IV. Bei jedem Präparat wurden die vorhanden Partikel gemäß dem Partikelalgorithmus detektiert. Außer Geschlecht und Lokalisation wurden noch die folgenden Variablen untersucht: Patientenalter, Standzeit der Endoprothese, Material der Endoprothesenkombination, histologischer Typ, Anzahl der CD3-positiven Lymphozyten in der Probe, Gewebeprobendurchmesser und zusätzliche Anwesenheit von PMMA-Partikeln. Bis auf die Standzeit sind alle Variablen vollständig. Die Standzeit war nur bei 139 Fällen bekannt.

4.1.1 Alter

Das Alter der Patienten lag bei Gewebeentnahme zwischen 37 und 92 Jahren mit einem Durchschnitt von 67.5 Jahren. Das folgende Histogramm gibt genaueren Einblick in die Altersstruktur:

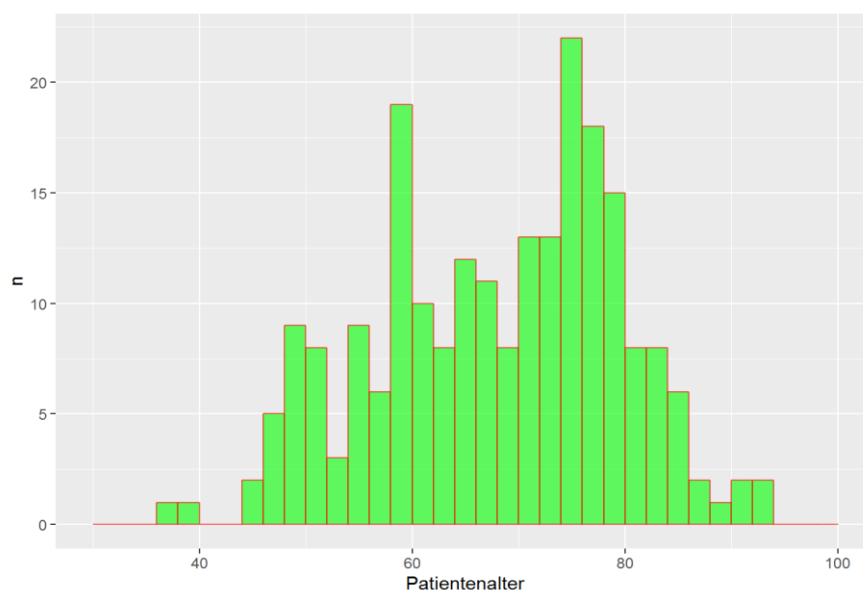


Abbildung 21: Verteilung des Patientenalters

Da die Implantation von Endoprothesen eher den älteren Teil der Bevölkerung betrifft, ist es wenig überraschend, dass der größte Teil der Patienten bei der Gewebeentnahme zwischen 58 und 80 Jahre alt war. Zwischen Männern und Frauen gab es beim durchschnittlichen Alter fast keinen Unterschied, wie der folgende Boxplot zeigt:

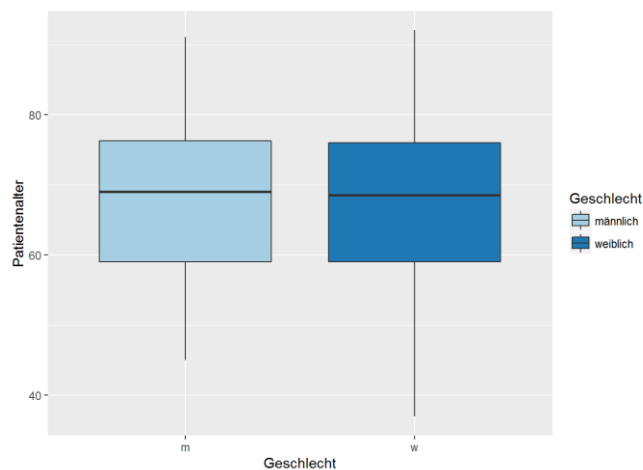


Abbildung 22: Altersverteilung bei männlichen und weiblichen Patienten

Interessant ist, ob das Alter Einfluss auf die verwendete Materialkombination der Endoprothese hat. Zur Beantwortung dieser Frage ist das Histogramm von Abbildung 21 erneut abgedruckt, wobei diesmal die einzelnen Säulen nach Materialkombination aufgeschlüsselt sind:

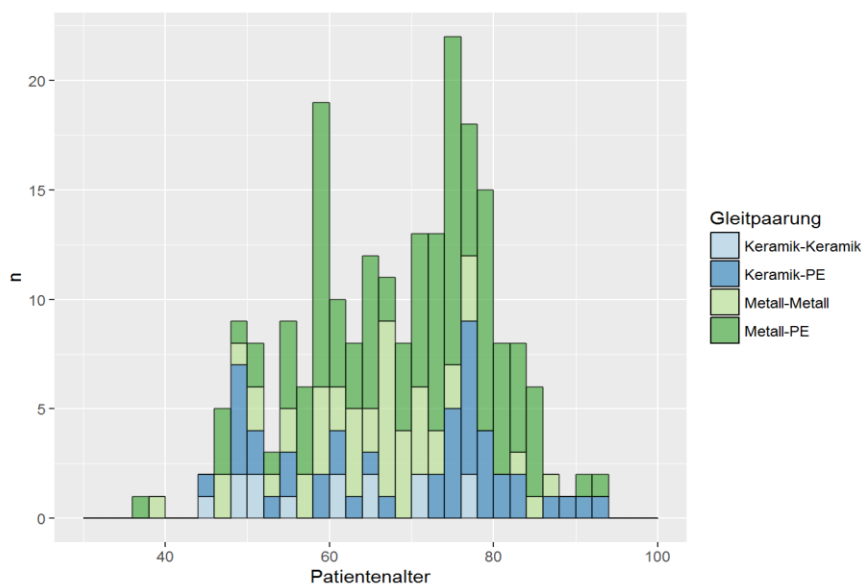


Abbildung 23: Patientenalter aufgeschlüsselt nach Gleitpaarung

Das Histogramm zeigt mehrere Besonderheiten. Ker-PE Endoprothesen sind im vorliegenden Kollektiv besonders häufig bei älteren Patienten anzutreffen, während Ker-Ker Endoprothesen vermehrt bei jüngeren Patienten vorkommen. Das könnte darauf zurückzuführen sein, dass Ker-Ker Endoprothesen bevorzugt bei jüngeren Menschen eingesetzt werden, da Keramik als modernes, hypoallergenes Material gilt und ein gutes Verschleißverhalten aufweist.

4.2 Grafische Analyse der CD3-Quantität

Nach der Quantifizierung der CD3-positiven Lymphozyten fällt auf, dass bei Me-Me Gleitpaarungen die meisten CD3-positiven Lymphozyten gezählt wurden mit einem Mittelwert von fast 1500 quantifizierten Zellen. Es folgen mit großem Abstand Me-PE und Ker-PE mit jeweils ähnlichen Mittelwerten. Da bei beiden Gleitpaarungen PE das vorherrschende Material in der SLIM, ist dies nicht verwunderlich. Keramik hat eine deutlich höhere Härte und beim Kontakt beider Materialien wird das weichere Polyethylen abgerieben. Die Ker-Ker Endoprothesen führen zur geringsten durchschnittlichen CD3-Infiltration.

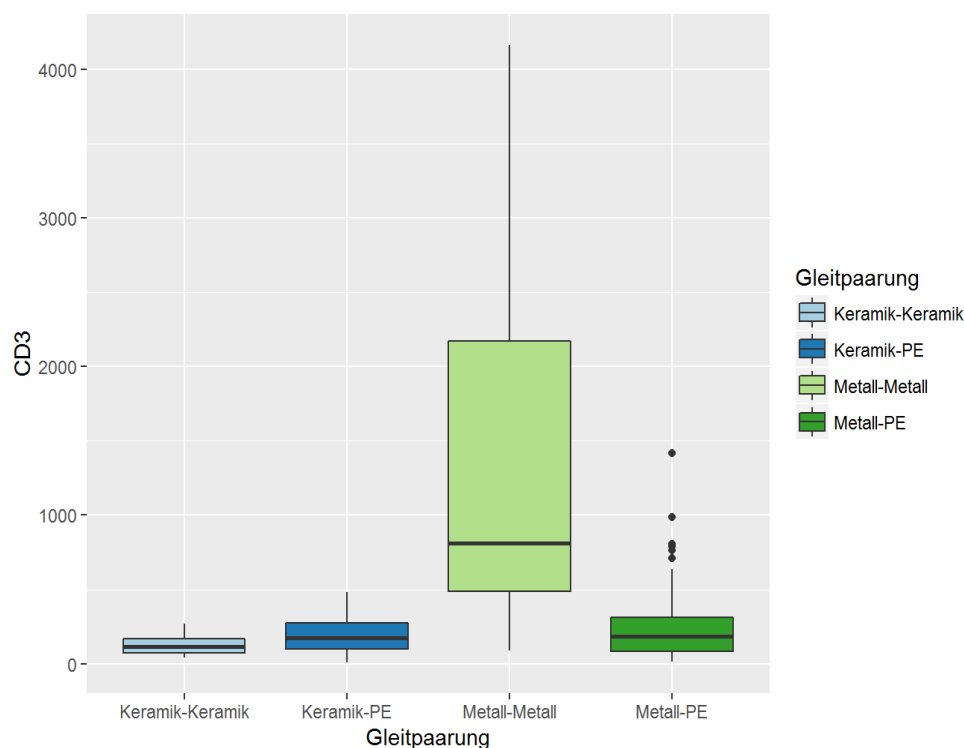


Abbildung 24: Anzahl der CD3-positiven Lymphozyten bei den verschiedenen Gleitpaarungen

Ebenfalls ist zu erkennen, dass die Varianz mit steigender Zellanzahl zunimmt. Me-Me Gleitpaarungen weisen nicht nur die größte CD3-Quantität auf, sondern zeigen auch die größte Streuung um ihren Durchschnitt. Die folgende Tabelle zeigt die Mittelwerte und Standardabweichungen der Anzahl der CD3-positiven Lymphozyten für alle Gruppen:

Gleitpaarung	Mittelwert	Standardabweichung
Ker-Ker	124.6	71.2
Ker-PE	182.9	107.4
Me-Me	1367.6	1056.7
Me-PE	243.3	229.4

Tabelle 2: Mittelwerte und Standardabweichungen der CD3-Quantitäten bei den verschiedenen Gleitpaarungen.

Unter den untersuchten Gewebeproben gibt es 34 Fälle von Patienten, bei denen trotz einliegender Endoprothese keinerlei Partikel gefunden wurden. Dies entspricht der periprotetischen Membran vom Typ IV. Wenn vermutet wird, dass die CD3-Infiltration durch die Existenz von Abriebpartikeln ausgelöst wird, sollten solche Fälle sehr niedrige CD3-Quantitäten aufweisen. Diese These kann man durch eine Kategorisierung nach histologischem Typ untersuchen. Patienten mit Abriebpartikeln im Gewebe haben den histologischen Typ I, während Gewebeproben ohne Abriebpartikel als histologischer Typ IV kategorisiert werden.

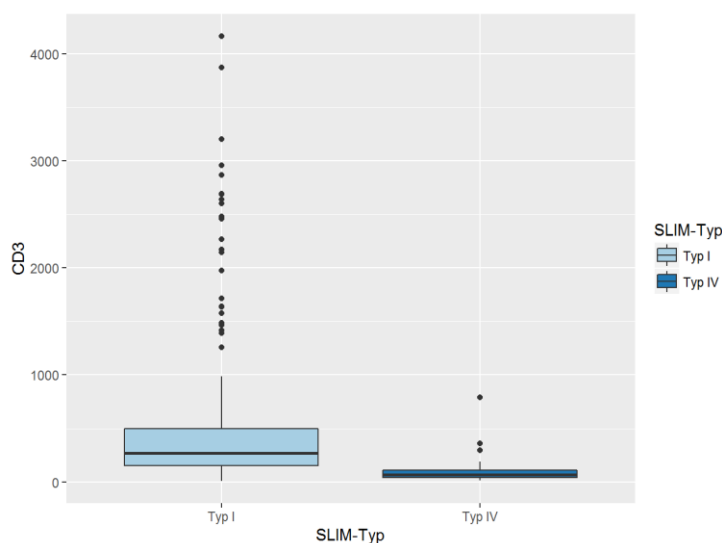


Abbildung 25: CD3-Quantität bei SLIM Typ I und SLIM Typ IV

Wie zu erwarten zeigen die Boxplots, dass die durchschnittliche Anzahl an CD3-positiven Lymphozyten bei Patienten des histologischen Typs I im Durchschnitt deutlich größer ist als bei Patienten des histologischen Typs IV. Die Signifikanz dieser Ergebnisse wird im nächsten Kapitel untersucht.

In der vorliegenden Studie gab es für die verschiedenen Materialkombinationen eine unterschiedliche Anzahl an Typ IV Patienten, wodurch die ursprünglichen Boxplots nach unten verzerrt sein könnten. Eine genauere Unterscheidung nach Materialkombination und histologischem Typ ist im folgenden Graph dargestellt:

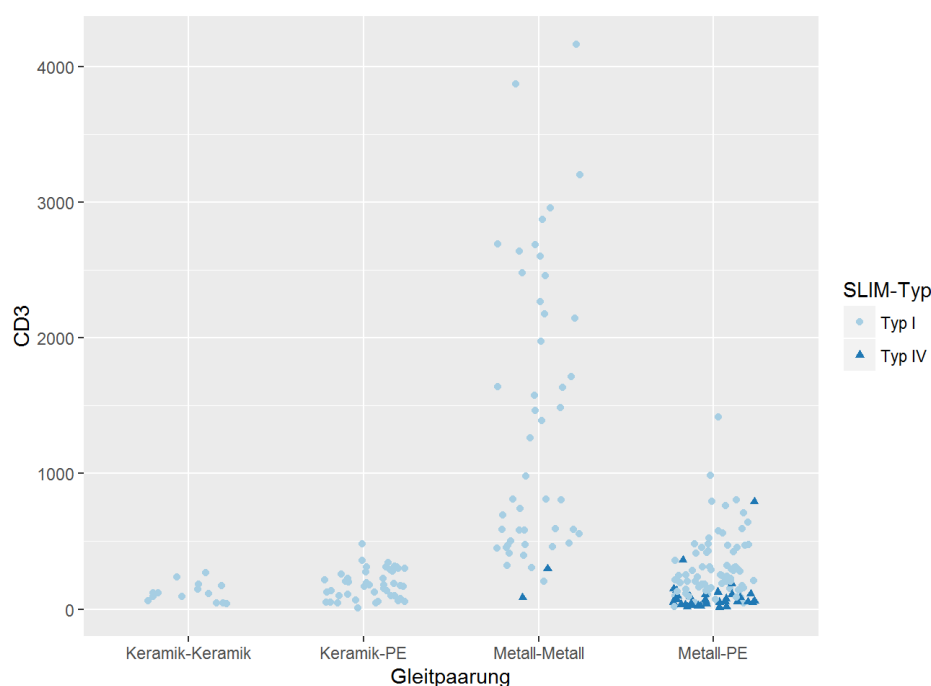


Abbildung 26: CD3-Quantität aufgeschlüsselt nach Gleitpaarung und histologischem Typ

Wie man erkennen weisen die Typ IV Patienten sowohl bei Me-Me als auch bei Me-PE Gleitpaarungen niedrige CD3-Quantitäten auf. Bei der Me-Me Gruppe gab es nur 2 Typ IV Fälle, deshalb dürfte die Verzerrung gering ausfallen. Bei den Me-PE Endoprothesen gab es hingegen 34 Fälle, was durchaus zu einer Verzerrung der Werte führen kann. Eine genauere Unterscheidung nach Endoprothesenmaterial und histologischem Typ ist im folgenden Graph dargestellt und kann über diese Verzerrung Aufschluss geben:

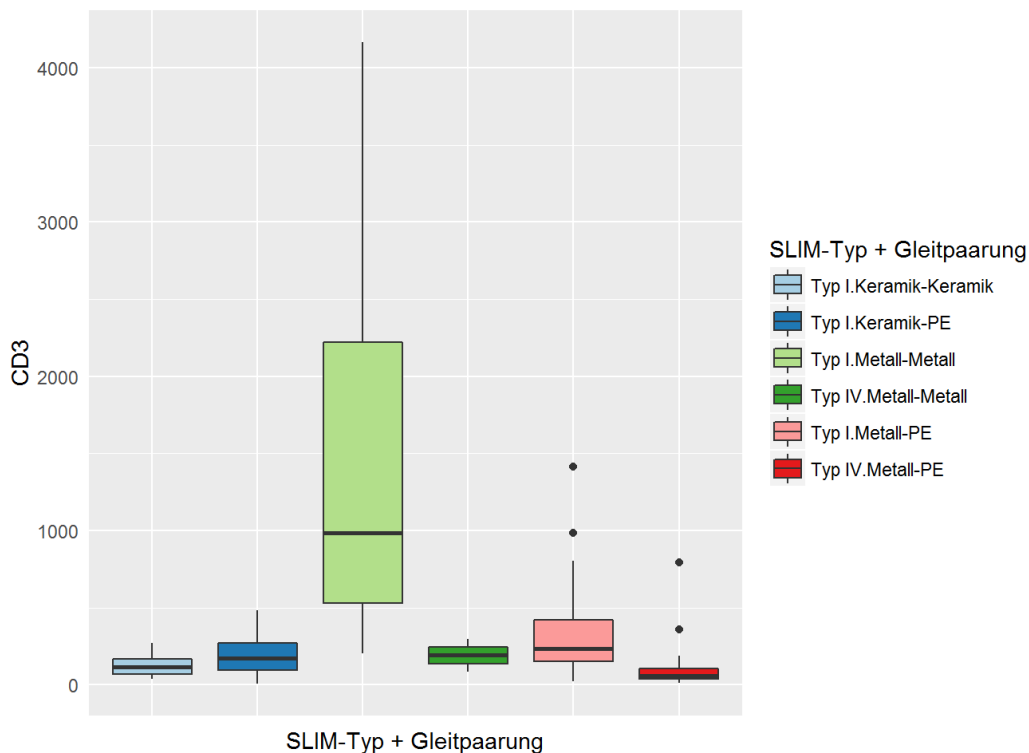


Abbildung 27: Anzahl der CD3-positiven Lymphozyten bei den verschiedenen Gleitpaarungen aufgeschlüsselt nach histologischem Typ der SLIM.

Diese Boxplots zeigen mehrere interessante Ergebnisse. Wie erwartet steigen die durchschnittlichen CD3 Werte für die verschiedenen Materialien an, wenn man die Patienten mit histologischem Typ I betrachtet. Die Patienten des histologischen Typs IV mit den Materialkombinationen Me-Me und Me-PE wiesen deutlich weniger CD3-Zellen auf als Typ I Patienten mit den entsprechenden Endoprothesen. Die Typ IV Me-Me Fälle haben durchschnittlich mehr CD3-positiv Lymphozyten als die Ker-Ker Gruppe. Das kann aufgrund der geringen Stichprobengröße Zufall sein, nur eine weitere Untersuchung von größerer Anteil Typ IV Me-Me Gleitpaarungen kann Klarheit schaffen.

Die folgende Tabelle zeigt die Mittelwerte und Standardabweichungen der CD3-positiven-Lymphozyten aufgeschlüsselt nach Material und histologischem Typ.

Gleitpaarung	SLIM Typ	Mittelwert	Standardabweichung
Ker-Ker	Typ I	124.6	71.2
Ker-PE	Typ I	182.9	107.4
Me-Me	Typ I	1417.6	1049.7
Me-Me	Typ IV	191.5	149.2
Me-PE	Typ I	304.0	233.4
Me-PE	Typ IV	98.9	138.5

Tabelle 3: Mittelwerte und Standardabweichungen der CD3-positiven Lymphozyten aufgeschlüsselt nach Material und histologischem Typ der SLIM.

4.2.1 Ermittlung eines Grenzwertes für Me-Me Gleitpaarungen

Me-Me Gleitpaarungen weisen eine deutlich höhere CD3-Quantität auf als die anderen Gleitpaarungen. Der Unterschied ist so deutlich, dass man aus der Anzahl der CD3-positiven Lymphozyten Rückschlüsse auf die verwendete Gleitpaarung ziehen kann.

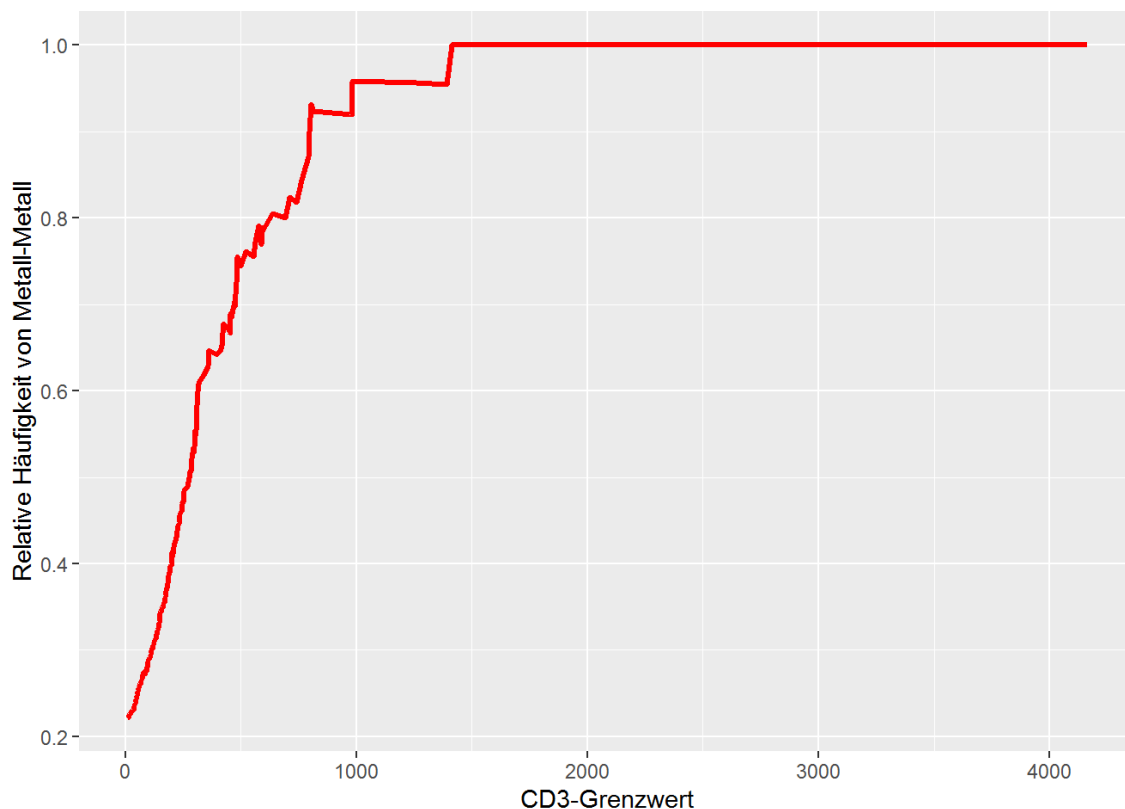


Abbildung 28: Ermittlung eines CD3-Grenzwertes für Me-Me Gleitpaarungen

Der vorangegangene Graph zeigt die relative Häufigkeit von Me-Me Gleitpaarungen in Abhängigkeit eines CD3-Grenzwertes. Wie man erkennen kann, haben Patienten mit mehr als 1415 gezählten CD3-Zellen zu 100% eine Me-Me Gleitpaarung. Der CD3-Grenzwert für eine 90-prozentige Häufigkeit von Me-Me Gleitpaarungen liegt bei 804 und für eine 80-prozentige Häufigkeit bei 638 Zellen. Sobald die relativ geringe CD3-Quantität von 279 Zellen überschritten ist, liegt die relative Häufigkeit von Me-Me Gleitpaarung bei über 50%.

4.2.2 CD3-Fokus-Score

Der große Unterschied im Hinblick auf die CD3-Quantität zwischen Me-Me Gleitpaarungen und allen anderen Gleitpaarungen lässt die Annahme zu, dass es sich bei diesen Me-Me Gleitpaarungen um eine adverse Reaktion des Körpers auf die Abriebpartikel handelt. Dies steht in Einklang mit den bereits publizierten Daten, dass bei den Me-Me Kombinationen eine ausgeprägte inflammatorische Reaktion mit Nekrosensbildung und entzündlicher Infiltration besteht. Bei den anderen Gleitpaarungen mit signifikant niedrigerer CD3-Quantität ist somit nicht von einer adversen Reaktion auszugehen. Aus dieser Erkenntnis lässt sich ein CD3-Fokus-Score ableiten, welcher die adverse von der nicht adversen Zellreaktion trennen kann. So wurde ein Schwellenwert festgelegt, der mit möglichst hoher Sensitivität und Spezifität die adverse Reaktion von einer nicht adversen Reaktion abgrenzen kann. Dieser Schwellenwert liegt bei diesem Kollektiv bei 447 Zellen/Fokus (Sensitivität=0,915, Spezifität=0,897, positiv prädikativer Wert=0,705, negativ prädikativer Wert=0,975).

4.3 Statistische Analyse

Die Boxplots zeigen für die verschiedenen Materialkombinationen teilweise deutlich erhöhte CD3-Quantitäten. Im Folgenden werden diese Ergebnisse auf Signifikanz untersucht.

4.3.1 Material und CD3-Quantität

4.3.1.1 Levine-Test

Wie in Tabelle 1 zu sehen ist, haben die unterschiedlichen Materialkombinationen verschiedene Standardabweichungen der durchschnittlichen CD3-Quantität. Eine

Voraussetzung des in der Wissenschaft weit verbreiteten „*student's t-test*“ ist, dass Homoskedastizität vorliegt, dass also alle Gruppen die gleiche Varianz haben. Der Levine-Test erlaubt es, die vorliegenden Daten auf Homoskedastizität zu prüfen. Die Nullhypothese lautet, dass Homoskedastizität vorliegt.

	df	F value	Pr(>F)
group	3	42.58	0
	218	NA	NA

Formel 1: Levine-Test

Der Levine-Test liefert einen p-Wert in der Größenordnung 10^{-16} . Dementsprechend muss die Nullhypothese mit extrem hoher Signifikanz abgelehnt werden. Da man davon ausgehen muss, dass Heteroskedastizität vorliegt, kann der gängige „*student's t-test*“ nicht unverzerrt verwendet werden. Stattdessen wird der „*welch's t-test*“ benutzt, der die unterschiedlichen Varianzen der CD3-Verteilungen berücksichtigt und trotzdem eine ähnliche Genauigkeit erreicht.

4.3.1.2 Welch's t-tests

Das Ziel dieser Studie ist die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen verwendetem Endoprothesenmaterial und der darauffolgenden CD3-Infiltration. Dementsprechend ist es kritisch zu wissen, ob die beobachteten erhöhten CD3-Quantitäten signifikant von Null verschieden sind. Es folgen verschiedene einseitige t-Tests, welche jeweils ein Material gegen die Ker-Ker Gruppe testen. Die Nullhypothese ist jeweils, dass die durchschnittliche Anzahl der CD3-positiven Lymphozyten der getesteten Gruppe kleiner oder gleich den CD3-Quantitäten der Ker-Ker Gruppe sind.

Test statistic	df	P value	Alternative hypothesis
8.169	49.49	4.908×10^{-11} * * *	Greater

Formel 2: Welch`s t-Test: Me-Me vs. Ker-Ker

Test statistic	df	P value	Alternative hypothesis
4.145	56.29	5.769×10^{-05} * * *	Greater

Formel 3: Welch`s t-Test: Me-PE vs. Ker-Ker

Test statistic	df	P value	Alternative hypothesis
2.331	33.33	0.01296 *	Greater

Formel 4: Welsh`s t-Test: Ker-PE vs. Ker-Ker

Für die t-Test der Me-Me und Me-PE Gruppen gegen die Ker-Ker Gruppe kann die Nullhypothese mit großer Sicherheit abgelehnt werden. Demnach zeigen beide Gruppen mit hoher Signifikanz eine gegenüber der Ker-Ker Gruppe erhöhte Anzahl CD3-positiver Lymphozyten. Der t-Test der Ker-PE Gruppe gegen die Ker-Ker Gruppe liefert einen p-Wert von 0.0129641. Zu einem Signifikanzniveau von 5% kann die Nullhypothese für die Materialkombination Ker-PE ebenfalls abgelehnt werden. Verwenden wir ein strengeres Signifikanzniveau von 1%, so kann die Nullhypothese nicht abgelehnt werden. Durch eine Erhöhung der untersuchten Stichproben ließe sich vermutlich eine höhere Signifikanz erzielen.

Bislang wurden alle Materialkombinationen mit der Ker-Ker Gruppe verglichen. Ebenso interessant sind die Unterschiede innerhalb der drei anderen Materialkombinationen.

Die folgenden drei t-Tests geben darüber Aufschluss:

Test statistic	df	P value	Alternative hypothesis
7.374	49.94	$7.875 \times 10^{-10} * * *$	Greater

Formel 5: Welsh`s t-Test: Me-Me vs. Me-PE

Test statistic	df	P value	Alternative hypothesis
7.803	49.1	$1.888 \times 10^{-10} * * *$	Greater

Formel 6: Welsh`s t-Test: Me-Me vs. Ker-PE

Test statistic	df	P value	Alternative hypothesis
2.253	150.8	0.01285 *	Greater

Formel 7: Welsh`s t-Test: Me-PE vs. Ker-PE

Zusammenfassung der Testergebnisse:

- Proben aus der Me-Me Gruppe weisen im vorliegenden Kollektiv hochsignifikant mehr CD3-positive Lymphozyten gegenüber den Gruppen Me-PE ($p=7.875 \times 10^{-10}$) und Ker-PE ($p=1.888 \times 10^{-10}$) auf (Signifikanzniveau 1%).
- Proben der Me-PE Gruppe weisen im vorliegenden Kollektiv signifikant mehr CD3-Zellen gegenüber der Ker-PE ($p=0.01285$) Gruppen auf (Signifikanzniveau 5%). Das 1% Signifikanzniveau wird hingegen knapp verfehlt.

4.3.2 Histologischer Typ und CD3-Quantität

Die vorhergehenden Boxplots lassen darauf schließen, dass die Patienten des histologischen Typs IV deutlich weniger CD3-positive Lymphozyten aufweisen als jene des Typs I. Dies wird durch den folgenden t-Test bestätigt:

Test statistic	df	P value	Alternative hypothesis
7.355	219.9	$1.865 \times 10^{-12} * * *$	Greater

Formel 8: *Welsh`s t-Test: SLIM Typ I vs. SLIM Typ IV*

Mit einem extrem kleinen p-Wert von 1.865×10^{-12} kann die Nullhypothese, dass Membranen vom Typ IV mindestens so viele CD3-positive Lymphozyten wie Typ I Proben aufweisen, verworfen werden.

4.3.2.1 Standzeit und CD3-Quantität

Es folgt eine Untersuchung des Zusammenhanges zwischen Standzeit und CD3 Infiltrat. Für diese Untersuchung wurden nur die 139 Fälle verwendet, bei denen die Standzeit bekannt ist. Der folgende Scatterplot zeigt die CD3-Quantitäten in Abhängigkeit der Standzeit für die verschiedenen Materialien an. Da die Anzahl der CD3-positiven Lymphozyten sehr große Unterschiede aufweist, ist die y-Achse mit $\log(10)$ skaliert.

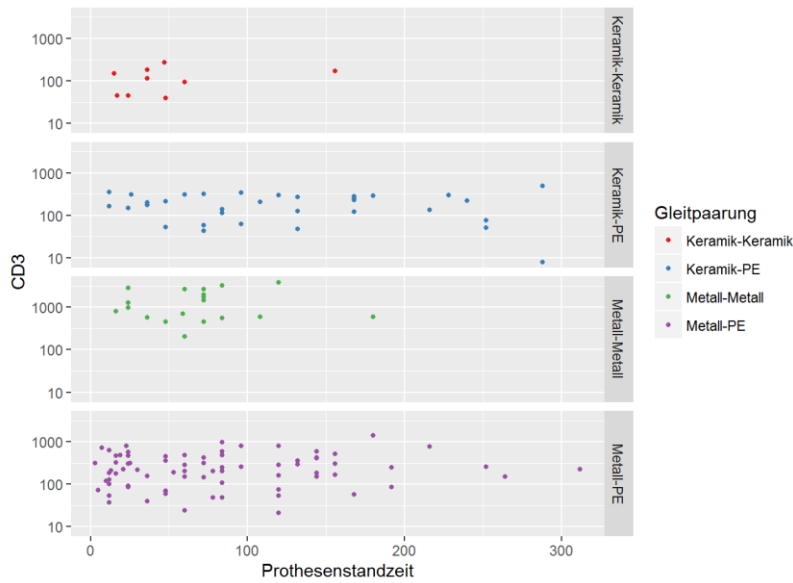


Abbildung 29: Korrelation der CD3-Quantitäten bei den verschiedenen Gleitpaarungen mit der Standzeit der Endoprothese.

Eine Steigerung der CD3-Zellen mit höherer Standzeit lässt sich auf den ersten Blick nicht erkennen. Zur genaueren Untersuchung wurde im Folgenden auf jeden Teilgraphen eine lineare Regression durchgeführt und eingetragen.

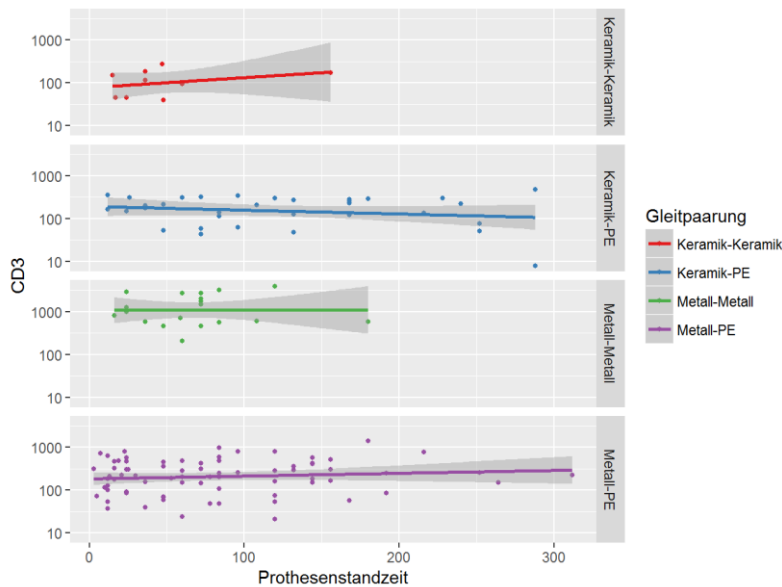


Abbildung 30: Korrelation der CD3-Quantitäten bei den verschiedenen Gleitpaarungen mit der Standzeit der Endoprothese- lineare Regression.

Die Regressionsgeraden weisen keine bis minimale Steigungen auf. Es scheint bei den untersuchten Patienten keinen positiven Zusammenhang zwischen Standzeit und Anzahl der CD3-positiven Lymphozyten zu geben.

4.3.3 Alter, Lokalisation und CD3-Quantität

Es wurde bereits gezeigt, dass das Material einer Gleitpaarung signifikanten Einfluss auf die Anzahl der beobachteten CD3-positiven Lymphozyten hat. In diesem Kapitel wird untersucht, wie groß dieser Einfluss für die verschiedenen Endoprothesenmaterialien ist. Dazu wird im nächsten Schritt eine Varianzanalyse der CD3-Quantität über die Variablen Alter, Geschlecht, Lokalisation, Standzeit, Materialkombination, histologischem Typ, Größe und PMMA durchgeführt. Zunächst noch einige Graphen der CD3-Quantitäten über den verschiedenen Variablen, um eventuelle nichtlineare Zusammenhänge zu erkennen.

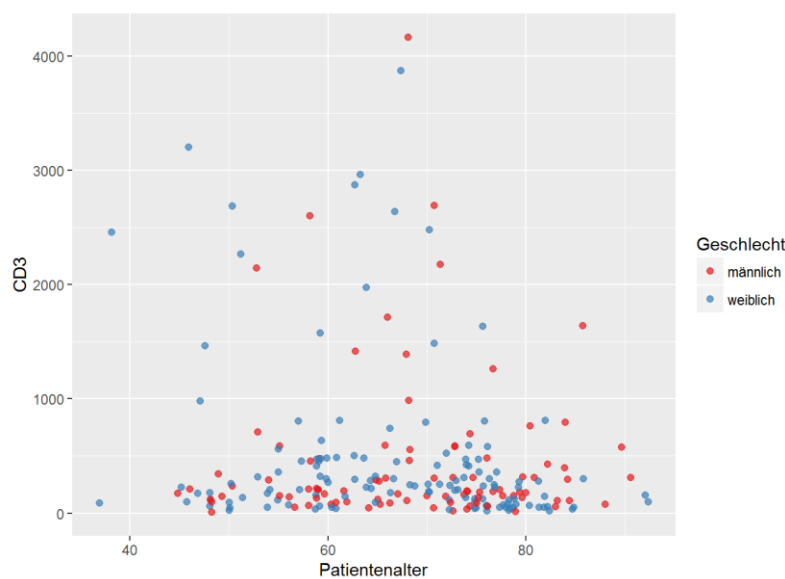


Abbildung 31: Korrelation zwischen CD3-Quantität und Patientenalter (alle Gleitpaarungen).

Zwischen dem Alter eines Patienten und dem CD3-Infiltrat lässt sich auf den ersten Blick kein Zusammenhang erkennen. Auch das Geschlecht scheint keinen Einfluss auf die Anzahl CD3-positiver Lymphozyten zu haben. Allerdings scheint die Lokalisation des Gewebes mit der Anzahl CD3-positiver Lymphozyten in Verbindung zu stehen. Ein Großteil der Proben mit vielen CD3-Zellen stammt aus der Hüfte, obwohl etwa gleich

viele Hüft- und Kniegewebeproben untersucht wurden. Da die Materialkombinationen ungleich auf die beiden Lokalisationen Knie und Hüfte verteilt waren, ist dies nicht weiter verwunderlich. Beispielsweise sind alle Me-Me Gleitpaarungen in der Hüfte lokalisiert. Die folgende Tabelle zeigt Mittelwert und Varianz der CD3-Quantitäten gruppiert nach dem Ort der Gewebeentnahme. Hüftgewebeproben weisen im Durchschnitt fast doppelt so viele CD3-Zellen auf wie Kniegewebeproben. Die Abweichung beträgt allerdings weniger als eine halbe Standardabweichung.

Lokalisation	Mittelwert	Standardabweichung
Hüfte	579.5526	801.8999
Knie	358.5093	575.6634

Tabelle 4: Mittelwerte und Standardabweichungen der CD3-Quantitäten bei Hüft- und Kniegelenken.

4.3.4 CD3-Infiltrat in der Hüfte vs CD3-Infiltrat im Knie

Wegen der ungleichen Verteilung der verschiedenen Materialkombinationen auf die Lokalisation soll dieser Test zeigen, ob die CD3-Infiltrationen in Knie und Hüfte ähnlich sind. Dazu wurden insgesamt 30 Me-PE Endoprothesen miteinander verglichen. Die Hälfte stammt aus dem Knie, die andere Hälfte aus der Hüfte.

Einige deskriptive Statistiken sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

Lokalisation	n	Mittelwert	Medianwert	Standardabweichung
Hüfte	15	290.3571	239.5	241.8256
Knie	15	303.6000	224.0	184.2672

Tabelle 5: Mittelwert, Medianwert und Standardabweichung der CD3-Quantitäten in Hüft- und Kniegelenken (nur Me-PE-Gleitpaarung).

Die Mittelwerte und Mediane unterschieden sich geringfügig. Die untersuchten Kniepräparate haben einen leicht höheren Mittelwert, während die Hüftpräparate einen etwas höheren Median haben. Die Standardabweichung ist ebenfalls bei den Hüftpräparaten etwas höher. Der folgende Boxplot veranschaulicht diese Ergebnisse graphisch:

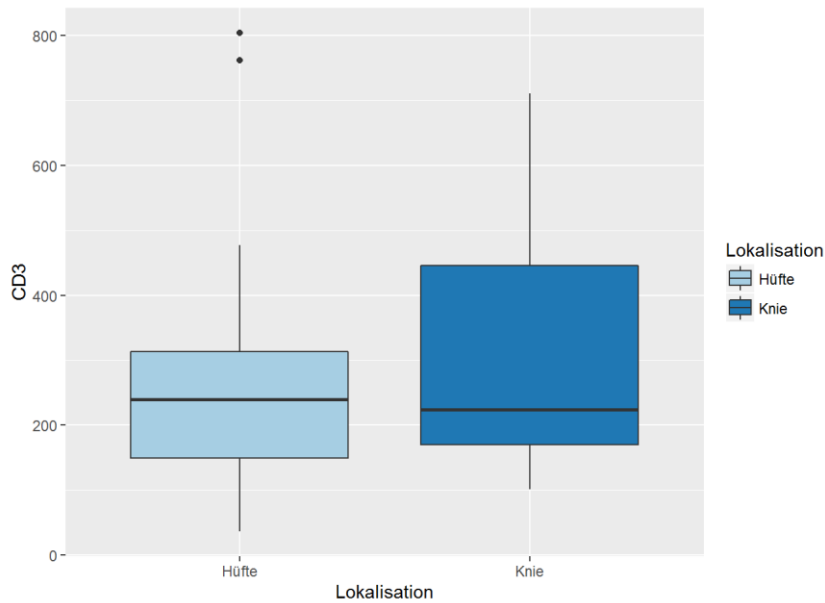


Abbildung 32: CD3-Quantität bei Me-PE Gleitpaarungen in Hüft- und Kniegelenken.

Die bisherige graphische Analyse deutet darauf hin, dass es keinen signifikanten Unterschied der CD3-Quantitäten zwischen Hüft- und Kniepräparaten gibt. Mit Hilfe eines zweiseitigen Welch's t-Test wird diese These statistisch überprüft. Die Nullhypothese ist, dass es zwischen den zwei Gruppen keine Unterschiede der durchschnittlichen Zellenanzahl gibt. Die Testergebnisse sehen folgendermaßen aus:

Test statistic	df	P value	Alternative hypothesis
0.165	24.29	0.8703	two.sided

Formel 9: Welch`s t-Test: Knie- vs. Hüftendoprothesen

Der t-Test liefert einen p-Wert von 87%. Somit kann die Nullhypothese nicht abgelehnt werden. Es besteht also kein signifikanter Unterschied der CD3-Infiltration in Hüfte und Knie bei vergleichbaren Materialkombinationen im untersuchten Kollektiv.

4.3.5 Univariate Varianzanalyse ANOVA

Um die genauen Effekte der verschiedenen Variablen auf die Anzahl der CD3-Zellen zu bestimmen, wird eine univariate Varianzanalyse durchgeführt. Die abhängige Variable hierbei ist selbstverständlich die Anzahl der CD3-positiven Lymphozyten. Die unabhängigen Variablen sind Materialkombination, Alter, Geschlecht, histologischer

Typ, Lokalisation, Größe, Standzeit und PMMA. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt:

	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Material	3	58.23	19.41	29.33	1.678×10^{-14}
Patientenalter	1	9.503×10^{-06}	9.503×10^{-06}	1.436×10^{-05}	0.997
Geschlecht	1	0.8308	0.8308	1.255	0.2646
SLIM-Typ	1	17.02	17.02	25.72	1.355×10^{-06}
Lokalisation	1	0.2134	0.2134	0.3225	0.5711
PMMA	1	0.08733	0.08733	0.132	0.717
Gewebedurchmesser	1	0.7755	0.7755	1.172	0.2811
Standzeit	1	0.2607	0.2607	0.3939	0.5314

Formel 10: Univariate Varianzanalyse (ANOVA)

Eine technische Voraussetzung der univariaten Varianzanalyse ist, dass die Residuen normalverteilt sind. Das ist bei den gegebenen Daten nicht der Fall. Dieses Problem ließ sich allerdings durch eine einfache Logarithmierung der CD3-Zellzahl lösen. Ein „Kolmogorow-Smirnow-Test“ zeigt, dass nach der Transformation die Residuen annähernd normalverteilt waren.

Die Tabelle zeigt, dass von allen überprüften Variablen im untersuchten Kollektiv sich nur zwei als signifikant einflussreich auf das CD3-Infiltrat erwiesen haben. Dabei handelt es sich um die Materialkombination und den histologischen Typ. Die p-Werte der anderen Variablen sind deutlich von dem 5% Signifikanzniveau entfernt. So ändert anscheinend auch das Vorhandensein von PMMA-Partikeln nichts am CD3-Infiltrat. Möglicherweise ließe sich durch eine weitaus größer angelegte Studie der signifikante Zusammenhang zwischen weiteren Variablen und der Anzahl der CD3-positiven Lymphozyten zeigen.

4.3.6 Fälle mit gesichertem kutanem allergologischem Befund

Es wurden 11 Fälle mit gesichertem kutanem allergologischem Befund auf das implantierte Material untersucht und mit 11 Fällen bei denen ein negativer allergologischer Befund vorlag verglichen. Alle Präparate hatten eine Membran vom histologischen Typ IV. Hier wurde untersucht ob sich das CD3-Infiltrat, verglichen mit analogen Fällen ohne allergologischen Befund, unterscheidet.

Kontaktallergie	n	Mittelwert	Medianwert	Standardabweichung
ja	11	193.63636	98	225.4987
nein	11	85.90909	85	45.8442

Tabelle 6: Mittelwert, Medianwert und Standardabweichung der CD3-Quantität bei Patienten mit und ohne Kontaktallergie.

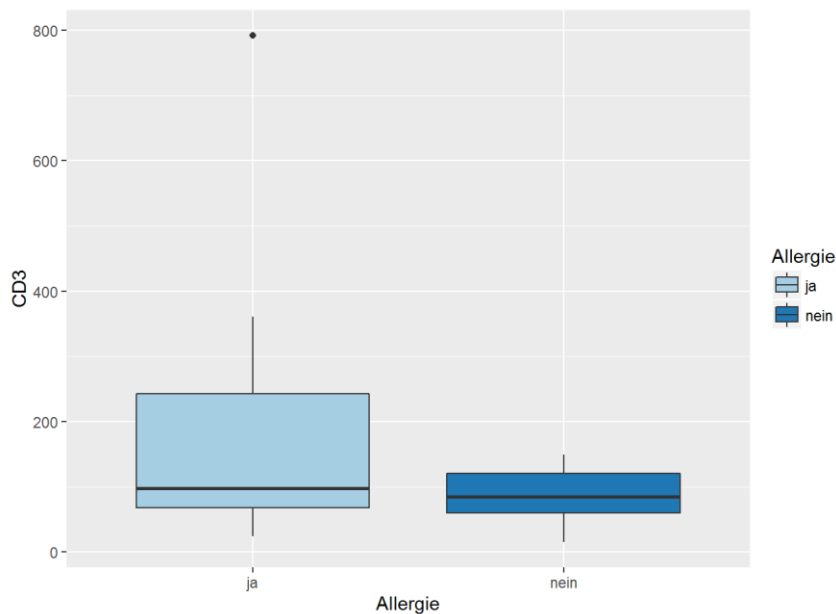


Abbildung 33: CD3-Quantitäten bei Patienten mit und ohne Kontaktallergie

Test statistic	df	P value	Alternative hypothesis
1.553	10.83	0.1492	two.sided

Formel 11: Welch's t-Test: Patienten mit Kontaktallergie vs. Patienten ohne Kontaktallergie

In der graphischen Analyse kann man erkennen, dass die Zahl der CD3-positiven Lymphozyten bei den Allergieklienten tatsächlich erhöht ist. Außerdem zeigt der Boxplot, dass die Varianz wesentlich größer ist. Der t-Test liefert einen p-Wert von 14.9%. Damit kann die Nullhypothese nicht abgelehnt werden und der Unterschied ist statistisch nicht signifikant.

4.3.7 Genauigkeit der CD3-Zählung des „CD3-Quantifiers“ (Version 0.9)

In diesem Kapitel wird die Genauigkeit des „CD3-Quantifiers“ der Firma VmScope GmbH aus Berlin bei der Zählung von CD3-Zellen untersucht. Der folgende Abschnitt bezieht sich auf die erste Version des Quantifiers (Version 0.9). Insgesamt wurden für die Untersuchung 30 Präparate sowohl vom Untersucher als auch von dem Quantifier ausgewertet. Dabei sind die von Hand ausgezählten Zellen als Maßstab zu werten. Ziel ist es, die Genauigkeit der Zählung des Computerprogramms festzustellen.

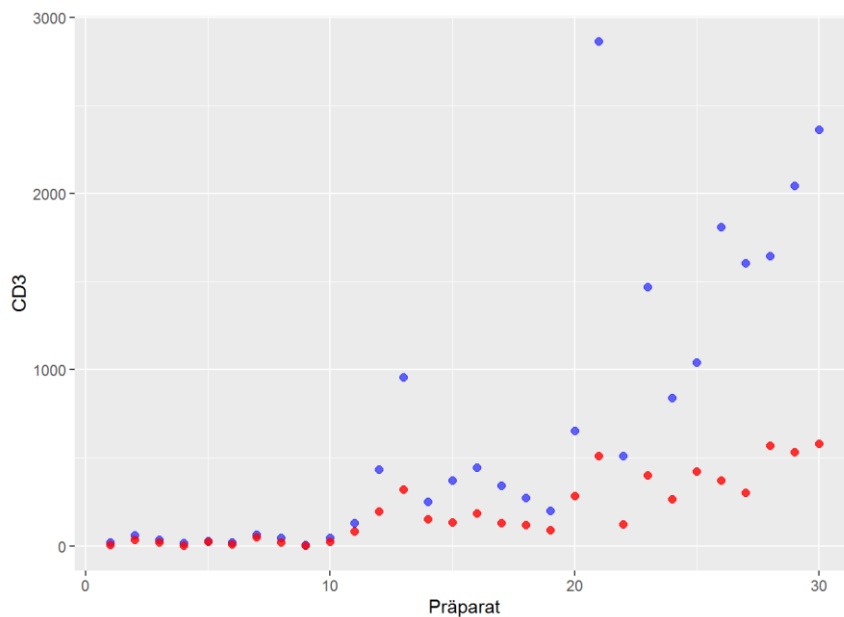


Abbildung 34: Vergleich der manuellen Auszählung (blau) mit den Ergebnissen des Quantifiers (rot) bei 30 fotografierten Präparaten.

Die blauen Punkte zeigen die durch den Verfasser der Arbeit gezählten CD3-Zellen. Die roten Punkte zeigen die Zellen, die von dem „CD3-Quantifier“ in der gleichen Probe erkannt wurden. Es ist klar zu erkennen, dass der Computer nicht alle CD3-Zellen erkennt. So zählt der Quantifier bei jedem Präparat zu wenig Zellen. Bei geringen CD3-Quantitäten von weniger als 100 Zellen ist die Zählung des Computers noch recht genau, aber je mehr CD3-Zellen in der Probe vorhanden sind, desto größer ist die Abweichung zwischen menschlicher und computergestützter Quantifizierung. Es gibt keinen einzigen Fall, wo der Computer mehr CD3-Zellen gezählt hat, als vom Menschen erkannt wurden.

Das liegt daran, dass die Differenzierung zwischen „Hintergrund“ und Zelle sehr gut gelingt. Jedoch werden häufig eng angrenzende Zellen als eine große Zelle zusammengefasst. Der folgende Graph stellt die absolute Differenz der CD3-Zählungen in Abhängigkeit der Anzahl der vorhandenen CD3-Zellen dar:

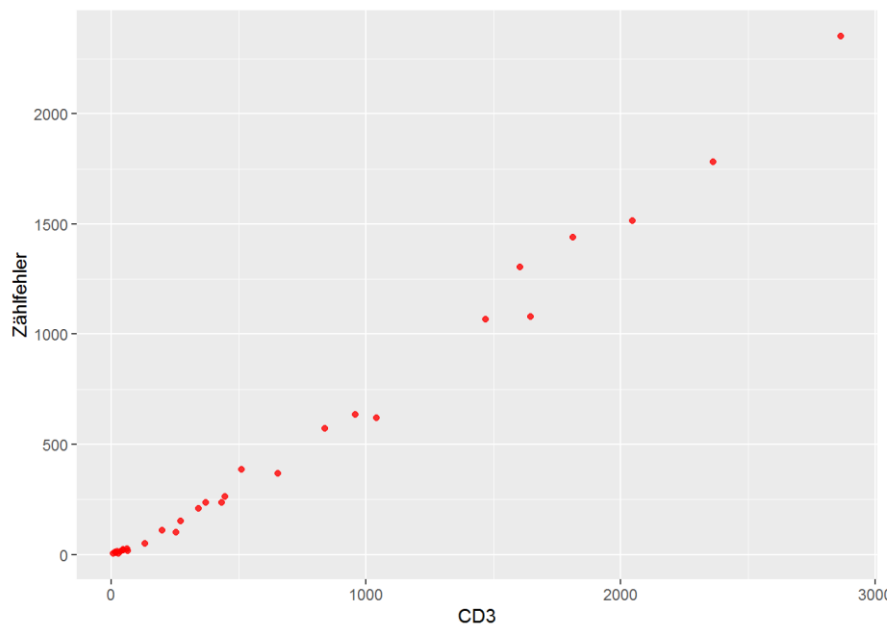


Abbildung 35: Fehlerrate des Quantifiers in Abhängigkeit zur Anzahl der CD3-Zellen

Zwischen der absoluten Fehlerhöhe und der Anzahl an CD3-Zellen scheint ein linearer Zusammenhang zu liegen. Diese These wird mittels einer linearen Regression überprüft:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(>
CD.3	0.7819	0.01554	50.33	5.224 x 10 ⁻²⁹
(Intercept)	-49.59	16.28	-3.046	0.005013
Observations	Residual Std. Error	R ²	Adjusted R ²	
30	67.35	0.9891	0.9887	

Formel 12: Lineare Regression der Fehlerrate des Quantifiers

Die Regression liefert ein eindeutiges Ergebnis. Die Anzahl der CD3-Zellen ist ein hochsignifikanter Prädiktor für die Höhe des Zählfehlers. Außerdem ist das R² der Regression nahe 1, was bedeutet, dass man alleine mit der Anzahl der vorhandenen

CD3-Zellen 98.9% der absoluten Zählfehler erklären kann. Der Computer zählt systematisch zu wenige Zellen. Für den Zusammenhang zwischen CD3-Zellenanzahl und absolutem Fehler liefert die Regression einen Koeffizienten von ca. 0.78 bei einer gleichzeitigen Standardabweichung von nur 0.02. Das bedeutet, dass der Zählalgorithmus nur ca. 22% der Zellen erkennt und den Rest ignoriert.

In den vorangegangenen Scatterplot wurde nun das Ergebnis der Regression eingefügt. Auch optisch lässt sich der lineare Zusammenhang zwischen absolutem Zählfehler und CD3-Quantität deutlich erkennen:

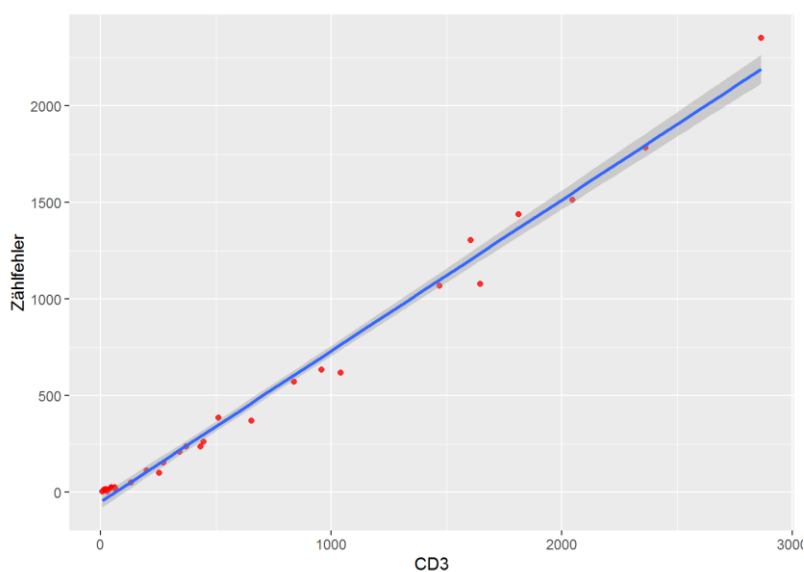


Abbildung 36: Fehlerrate des Quantifiers in Abhängigkeit zur Anzahl der CD3-Zellen mit graphischer Darstellung der linearen Regression

4.3.7.1 Neue Version des CD3-Quantifiers (Version 1.0)

Während des Entstehens dieser Arbeit wurde der CD3-Quantifier verbessert und die Ergebnisse dieses Updates werden im Folgenden untersucht:

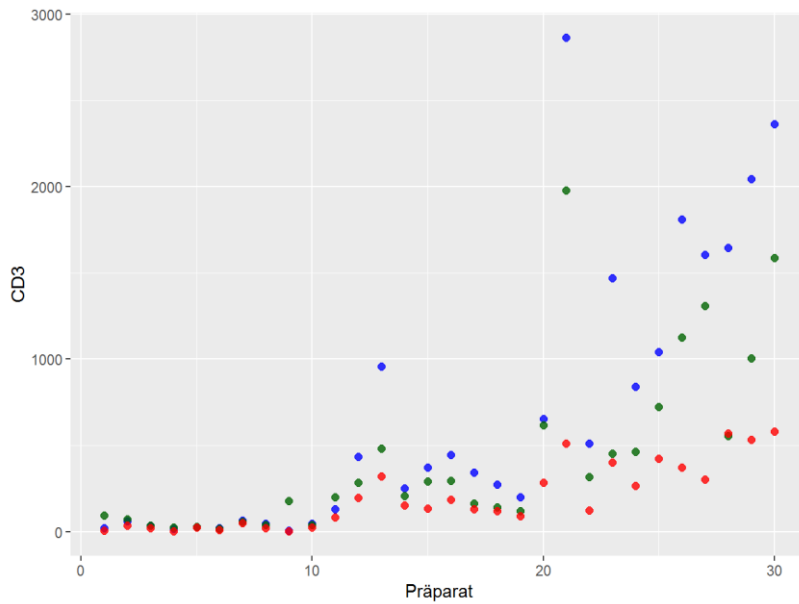


Abbildung 37: Vergleich der manuellen Auszählung (blau) mit den Ergebnissen des Quantifiers Version 0.9 (rot) und des neuen Quantifiers Version 1.0 (grün) bei 30 fotografierten Präparaten.

Zu Abbildung 36 wurden die gezählten CD3-Zellen des neuen Quantifiers in dunkelgrün hinzugefügt. Man kann erkennen, dass der neue Quantifier deutlich genauer ist als sein Vorgänger. Aber bei hohen CD3-Quantitäten werden nach wie vor zu wenig Zellen erkannt, während der neue Quantifier bei niedrigen Werten sogar zu viele CD3-Zellen zählt. Der folgende Graph vergleicht die Zählfehler der beiden Quantifier:

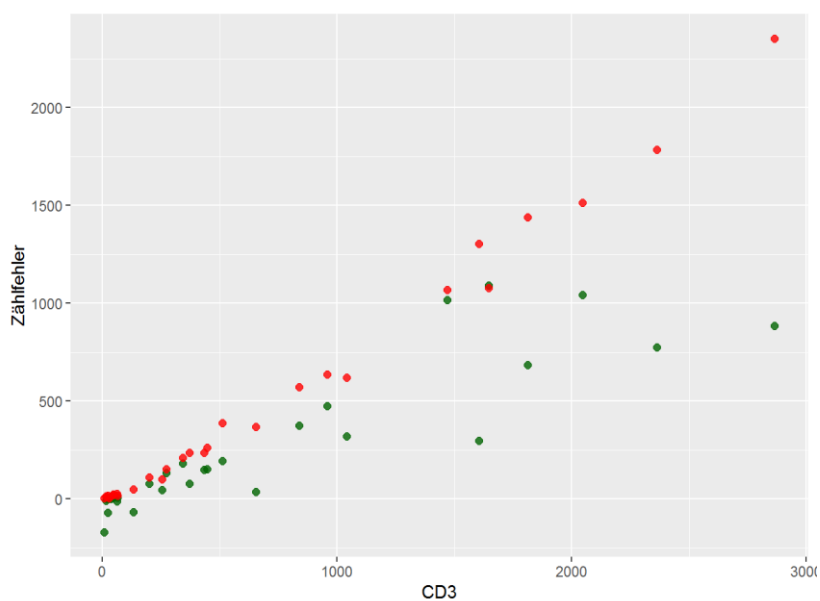


Abbildung 38: Vergleich der Zählfehler des Quantifiers Version 0.9 (rot) und 1.0 (grün)

Hier lässt sich erkennen, dass die durchschnittlichen Zählfehler des neuen Quantifiers deutlich kleiner sind. Nur bei sehr niedrigen CD3-Quantitäten scheint der Quantifier zu viele Zellen zu zählen mit erheblich größerem Fehler.

Wie im vorangegangenen Kapitel wurde hier ebenfalls eine lineare Regression durchgeführt, um zu sehen, ob der Zusammenhang zwischen dem Zählfehler und der Anzahl der CD3-Zellen auch beim neuen Quantifier linear ist:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(>
CD-3	0.4103	0.03808	10.78	1.806×10^{-11}
(Intercept)	-25.12	39.91	-0.6296	0.5341
Observations	Residual Std. Error	R ²	Adjusted R ²	
30	165.1	0.8057	0.7988	

Formel 13: lineare Regression der Zählfehler beider Quantifier

Es ist wieder ein deutlicher linearer Zusammenhang zu erkennen, allerdings ist das R² mit einem Wert von 0.806 geringer als beim Vorgänger. Demnach können ca. 80.6 % der Zählfehler durch die Anzahl der CD3-Zellen erklärt werden.

Für den Zusammenhang zwischen CD3-Quantität und absolutem Fehler liefert die Regression einen Koeffizienten von ca. 0.41 bei einer gleichzeitigen Standardabweichung von nur 0.04. Das bedeutet, dass der Zählalgorithmus ca. 59 % der Zellen erkennt und den Rest ignoriert. Dies ist eine deutliche Steigerung der Genauigkeit. Die Ergebnisse der Regression sind im folgenden Graph anhand der grünen Regressionsgeraden zu erkennen. Die rote Regressionsgerade zeigt das Fehlermodell des alten Quantifiers:

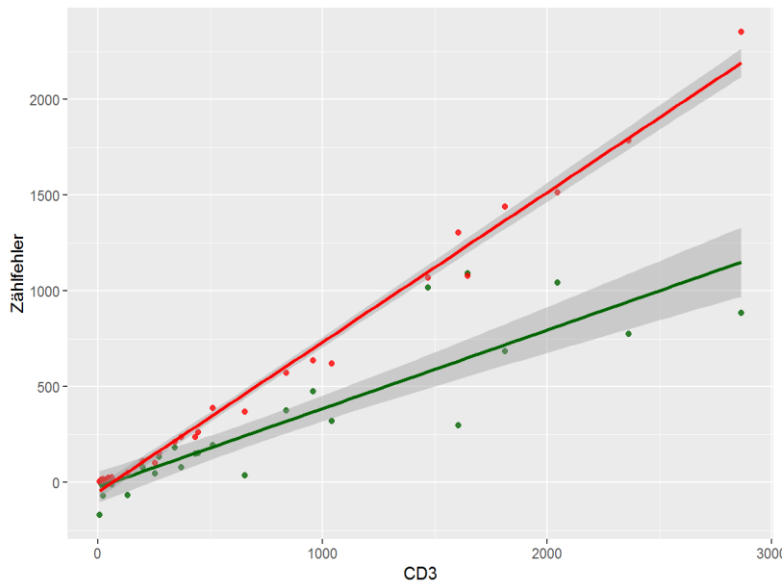


Abbildung 39: lineare Regression der Zählfehler des Quantifiers Version 0.9 (rot) und 1.0 (grün)

Man kann leicht erkennen, dass der neue Quantifier eine deutlich genauere Zählung durchführt.

4.3.8 Supramakropartikel bei Me-PE Prothesen

Zusätzlich wurden 27 Gewebe mit auffällig großen PE-Partikeln (100µm-2200µm), sogenannten Supramakropartikel [KRENN, HOPF, THOMAS, ET AL. 2016], untersucht. Sie entstammten sämtlich Endprothesen mit der Gleitpaarung Me-PE. Diese Gruppe wurde hinsichtlich der Standzeit mit 27 zufällig ausgesuchten Fällen der Me-PE Gruppe (Partikelgröße kleiner als 100µm) verglichen. Es wurde untersucht, ob die durchschnittliche Standzeit der Endprothesen dieser beiden Gruppen differierte.

Die folgende Tabelle zeigt die durchschnittlichen Standzeiten aufgeschlüsselt nach der Existenz von suprapartikulärem Material mit der jeweiligen Standardabweichung:

Supramakropartikel	n	Mittelwert	Standardabweichung
ja	27	264.51852	272.40318
nein	27	64.51852	64.46786

Tabelle 7: Mittelwerte und Standardabweichungen der Prothesenstandzeiten bei Präparaten mit und ohne supramakropartikulärem PE

Die Gruppe mit Supramakropartikel hatte eine erheblich längere durchschnittliche Standzeit als die Vergleichsgruppe. Der Unterschied beträgt ungefähr 200 Monate. Auch an den folgenden Boxplots ist zu erkennen, dass die Gruppe ohne Supramakropartikel kürzere Standzeiten aufwies.

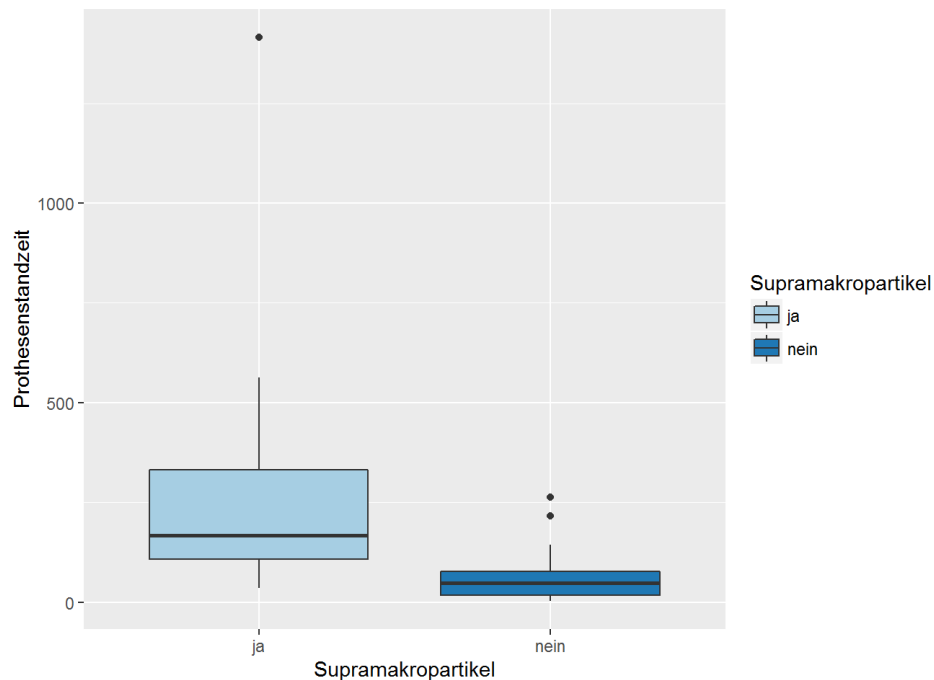


Abbildung 40: Prothesenstandzeit bei Präparaten mit und ohne Supramakropartikeln

Mit Hilfe eines Welch's t-Test wird überprüft, ob der Unterschied in den Standzeiten signifikant ist:

Test statistic	df	P value	Alternative hypothesis
3.712	28.9	0.0008713 * * *	two.sided

Formel 14: Welch's t-Test: Me-PE Gleitpaarung mit Supramakropartikeln vs. Me-PE Gleitpaarung ohne Supramakropartikeln

Tatsächlich liefert der t-Test ein hochsignifikantes Ergebnis. Der p-Wert beträgt ca. 0.0009 und damit können wir die Nullhypothese, dass es keinen Unterschied zwischen den Standzeiten gibt bei den untersuchten Patienten zu einem hohen Signifikanzniveau von 1 % ablehnen.

5. Diskussion

5.1 Histopathologische Klassifikation der SLIM

Grundlage der Diagnostik bildet die periprothetische Membran und/oder die Neokapsel. Dabei erweist sich die Konsensusklassifikation als äußerst wertvolles Diagnosetool bei Gelenkspathologien wie beispielsweise der Endoprothesenlockerung. Die Konsensusklassifikation kann sowohl auf die SLIM als auch auf die Neokapsel angewendet werden. Wie in der Einleitung schon beschrieben wurde, teilt der Pathologe die SLIM in verschiedene Typen ein. Der bei der aseptischen Lockerung sehr wichtige Typ I zeigt neben Abriebmaterial der verwendeten Gleitpaarung auch nekrotische Veränderungen in der SLIM [HANSEN, OTTO, BUCHHORN, ET AL. 2002; MORAWIETZ, CLASSEN, SCHRÖDER, ET AL. 2006; OTTO, KRIEGSMANN, GEHRKE, ET AL. 2006]. Ob die nekrotischen Areale nur toxisch bedingt sind oder auch immunologische oder inflammatorische Prozesse eine Rolle spielen, ist bisher noch unklar. Die endgültige Ursache dieser Nekrosen ist ungeklärt, zu diskutieren ist eine lokale Durchblutungsstörung oder eine toxische Wirkung der Abriebpartikel.

Durch den anfallenden Abrieb in der Membran und die darauffolgende Reaktion des Körpers können die verwendeten Gleitpaarungen und eine mögliche Abwehrreaktion festgestellt werden. So können Gleitpaarungen, die eine starke Abwehrreaktion provozieren, anhand der periprothetischen Membran identifiziert werden [RICHTER-KUHLMANN 2008].

Außerdem kann die Unterscheidung zwischen aseptischer (Typ I/IV) und septischer (Typ II/III) Lockerung erkannt werden. Die Ursache einer Endoprothesenlockerung hat entscheidende Auswirkungen auf die Therapie [MCKENNA, O'SHEA AND MASTERSON 2009]. Bei aseptischen Lockerungen genügt es, die gelockerte Endoprothese mitsamt der Lockerungsmembran zu entfernen und ein neues Implantat einzusetzen. Es ist auch möglich, nur einzelne Komponenten der Endoprothese, die gelockert sind, auszutauschen. Bei einer septischen Ursache ist es unumgänglich sämtliches Endoprothesenmaterial zu entfernen und die infizierten Weichteil- und Knochengewebe zu resezieren. Die erneute Implantation einer Endoprothese kann in gleicher Sitzung erfolgen, wird aber in den meisten Fällen erst nach einigen Wochen durchgeführt,

sodass der Patient unter antibiotischer Therapie eine zeitlang ohne Endoprothese leben muss [PEERSMAN, LASKIN, DAVIS, ET AL. 2001].

Akute Protheseninfektionen sind klinisch und laborchemisch eindeutig zu diagnostizieren. Bei chronischen septischen Lockerungen fehlen aber oft die klinischen und laborchemischen Infektzeichen und auch der intraoperative Befund zeigt typischerweise keinen Eiter, sondern eine entzündlich veränderte SLIM, die ganz ähnlich wie bei einer aseptischen Lockerung aussehen kann. Hier kann die histologische Unterscheidung zwischen Typ I/IV bzw. Typ II/III ein entscheidendes Kriterium für die weitere Behandlung sein. In strittigen Fällen kann die Unterscheidung zwischen den Membrantypen auch im Rahmen einer Schnellschnittdiagnostik durchgeführt werden. Eine leicht durchzuführende Unterscheidung zwischen septischer und aseptischer Pathogenese stellten Morawietz et al. 2009 vor. Durch Auszählen von neutrophilen Granulozyten unter einem bestimmten Fokus kann über einen Grenzwert zwischen aseptischer und septischer Pathogenese unterschieden werden [MORAWIETZ, TIDDENS, MUELLER, ET AL. 2009].

Einen wichtigen Membrantyp bezeichnet der Indifferenztyp (Typ IV). Hier sind weder Abriebpartikel noch eine Infektion histologisch sichtbar. Die Ursache für Endoprothesenlockerungen mit Membran Typ IV ist bisher noch nicht vollständig geklärt. Da jedoch circa 15% aller gelockerten Endoprothesen eine Membran vom histologischen Typ IV haben, ist er nicht vernachlässigbar. Eine Theorie für die Entstehung dieses Membrantyps ist, dass die Endoprothese von Anfang an nicht gut eingeeilt ist, beispielsweise aufgrund einer zu frühen oder zu starken Belastung [WILLERT AND BUCHHORN 1999] und es so nie zu einer guten Osteointegration kam. Des Weiteren könnten ungünstige Druckverhältnisse zwischen Knochen und Endoprothese zur Knochenatrophie führen [SKRIPITZ AND ASPENBERG 2000] und somit zur Auslockerung der Endoprothese ohne Fremdkörperreaktion. Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass die Gelenkkapsel von Arthrofibrosepatienten ebenfalls dem histologischen Typ IV ähnelt. In der erweiterten Konsensusklassifikation nach Krenn et al. wird die Arthrofibrose als eigener Typ V, einer Subkategorie von Typ IV, beschrieben [KRENN, MORAWIETZ, PERINO, ET AL. 2014]. Es besteht also eine Ähnlichkeit der Gelenkkapsel bei Arthrofibrose und bei partikelfreier Endoprothesenlockerung. Die zugrundeliegenden Mechanismen sind noch nicht aufgeklärt.

Neben dem histologischen gibt auch der mikrobiologische Befund Auskunft über das Vorliegen einer Infektion. Weder die histologische noch die mikrobiologische Diagnostik erreichen eine Sensitivität und Spezifität von 100%. Beide Verfahren können sowohl falsch positive als auch falsch negative Ergebnisse liefern [PANDEY, DRAKOULAKIS, AND ATHANASOU 1999; PEERSMAN, LASKIN, DAVIS, ET AL. 2001]. Während das Ergebnis des mikrobiologischen Befundes in bestimmten Fällen erst nach 14 Tagen zu erwarten ist, gelingt die histopathologische Untersuchung der SLIM in relativ kurzer Zeit. Die Konsensusklassifikation erlaubt eine Einteilung der SLIM in nur wenigen Minuten. Es kommt in seltenen Fällen vor, dass sich histologischer und mikrobiologischer Befund widersprechen [MORAWIETZ, CLASSEN, SCHRÖDER, ET AL. 2006]. Diese Diskrepanz lässt sich in manchen Fällen dadurch erklären, dass es bei chronischen Infekten oft unmöglich ist Bakterien durch eine Gelenkpunktion nachzuweisen. Ein verbesserter Nachweis gelingt durch Einsendung von mehreren Gewebstücken oder Sonikation der Endoprothese.

Als neue Methode ist der Nachweis von Alpha-defensin aus dem Gelenkerguss etabliert worden [DEIRMENGIAN, KARDOS, KILMARTIN, ET AL. 2015]. Dieses Enzym schüttet der Körper selektiv bei bakteriellen Infektionen aus, sodass der Test eine Spezifität von circa 95% erreicht [FRANGIAMORE, SALEH, GROSSO, ET AL. 2015]. Dieser Test ist während der Operation in 10 Minuten durchzuführen und kann das weitere operative Vorgehen entscheidend beeinflussen. Keine Aussagekraft besitzt dieser Test allerdings bei jedweder aseptischen Lockerung.

Im vorliegenden Kollektiv wurde der histologische Typ der Membran mit den eventuell vorliegenden mikrobiologischen Befunden verglichen und es wurden nur Fälle ausgewertet, bei denen keine Hinweise auf Infektion vorlagen.

5.2 Toxische und immunologische implantatmaterial-allergische Reaktion

Allergische Reaktionen auf metallische Antigene sind heutzutage relativ weit verbreitet. So zeigen 13% der Bevölkerung eine allergische Reaktion vom verspäteten Typ (Typ IV) auf Nickel [SCHÄFER, BÖHLER, RUHDORFER, ET AL. 2001]. Betroffen sind besonders jüngere Frauen. Dermatologisch äußert sich die epikutane Kontaktallergie als Kontaktekzem, ausgelöst durch Allergen-spezifische T-Zellen [THOMAS, SCHUH, RING, ET AL. 2008]. Leitsymptome sind Erytheme, Papeln und Bläschen auf der Haut, begleitet von Juckreiz. Eine direkte Übertragung der immunologischen Vorgänge auf der Haut sind nicht ohne Weiteres auf das Gewebe der periprothetischen Membran zulässig. Eine bloße Kontaktallergie der Haut lässt nicht automatisch auf eine allergische Reaktion auf das Endoprothesenmaterial schließen. In vielen Fällen vertragen Patienten mit Nickel-Kontaktallergie Endoprothesen, die Nickel enthalten, ohne Probleme [THOMAS, SCHUH, RING, ET AL. 2008]. Thyssen et al. untersuchten Patienten mit und ohne Nickelallergie, die eine Hüftendoprothese eingesetzt bekamen. Beide Kollektive hatten gleichgute Ergebnisse und es fanden sich auch keine Unterschiede bezüglich einer späteren Revisionsoperation [THYSSEN, JAKOBSEN, ENKILDE, ET AL. 2009]. Auch Carlsson und Möller berichten in einer Studie von 1989, dass es trotz gesicherter Kontaktallergie auf das Material der Endoprothese bei keinem der 18 Patienten zu einer implantatassoziierten Komplikation kam [CARLSSON AND MÖLLER 1989]. Ein positiver Epikutantests spricht also nicht für eine sichere implantatallergische Reaktion. Die Anzahl echter Implantatallergien wird kontrovers diskutiert.

In der erweiterten Konsensusklassifikation nach Krenn et al. wurden bereits die primär immunologisch-allergischen Mechanismen als eigener Typ (Typ VI) beschrieben [KRENN, MORAWIETZ, PERINO, ET AL. 2014]. In welchem Ausmaß allergische Reaktionen auf Endoprothesenmaterial eine Ursache für Beschwerden des Patienten sein könnten ist noch nicht abschließend geklärt [VON DOMARUS, ROSENBERG, RÜTHER, ET AL. 2011; THOMAS, SCHUH, RING, ET AL. 2008]. Das klinische Bild einer Allergie gegen Endoprothesenmaterial ist sehr variabel, es reicht von lediglich leichten Beschwerden bis schweren entzündlichen Hautreaktionen um das betroffene Gelenk herum. Klinisch

und laborchemisch kann die Abgrenzung gegen eine low-grade-Infektion schwierig sein.

Eine Analyse des Diagnosezentrums Trier (ZHMZD-Trier) von 2014 untersuchte 2425 Fälle von endoprothesenassoziierten Pathologien. Bei 245 dieser Fälle wurde vom behandelnden Orthopäden die Frage nach implantatmaterial-allergischer Reaktion gestellt. In 28 Fällen wurden Lymphozyteninfiltrate gefunden, ein Hinweis auf eine mögliche allergische Reaktion [KRENN, PERINO, KRENN, ET AL. 2016].

Ein kausaler Zusammenhang zwischen einer implantatallergischen Reaktion und Endoprothesenversagen ist weder hinreichend bewiesen noch widerlegt. Sollte eine CD3-positive Lymphozytose bei Membran Typ I oder IV vorliegen, kann die Verdachtsdiagnose einer allergischen Reaktion auf das verwendete Implantatmaterial nicht ausgeschlossen werden [MAHENDRA, PANDIT, KLISKEY, ET AL. 2009].

In den eigenen untersuchten Fällen zeigten die 11 Fälle mit gesichertem positiven kutanem allergologischen Befund tatsächlich eine leicht erhöhte CD3-positive Lymphozytose gegenüber dem Vergleichskollektiv ohne Allergie. Signifikante Unterschiede konnten jedoch nicht erkannt werden. Aufgrund der geringen Fallzahl sind die Aussagen dieser Statistik bisher noch unsicher.

Abschließend kann festgehalten werden, dass eine CD3-positive Lymphozytose und ein gesicherter allergologischer Befund zwar einen Hinweis auf eine allergische Reaktion geben kann, diese jedoch nicht beweist [THOMAS, SCHUH, RING, ET AL. 2008; THOMAS, THOMAS, SUMMER, ET AL. 2011]. Solange kein zuverlässigerer Marker gefunden wird, kann die Diagnose einer implantatallergischen Reaktion nicht zweifelsfrei gestellt werden.

5.3 Materialabhängige CD3-Response in der SLIM

Bereits in der Einleitung wurde auf die verschiedenen Pathomechanismen hingewiesen, die zur Auslockerung einer Endoprothese führen können. Dass Fremdkörpermaterial zu toxischen und immunpathologische Reaktionen führen kann, ist bisher mehrfach

beschrieben. Die Me-Me Gleitpaarung galt bis vor kurzem noch als sichere und langlebige Konzeption. Nach Einführung von sogenannten Großköpfen in der Hüftendoprothetik stiegen die Frühkomplikationen dieser Gleitpaarung drastisch an. Diese Me-Me Kombinationen wiesen auch verkürzte Standzeiten auf [PARK, MOON, LIM, ET AL. 2005], sodass sie in der heutigen Endoprothetik weitgehend verlassen sind. Als Ursache für das Versagen wird im Allgemeinen ein vermehrter Abrieb und eine Fremdkörperreaktion („adverse Reaktion“) auf diese Metallpartikel angenommen.

Besonders bei Me-Me Gleitpaarungen wurden neben großflächigen Lymphozyteninfiltraten nekrotische Areale beobachtet [F. LINTNER 2003; PLITZ, VEIHELMANN, AND PELLENGAHR 2003]. Die Ausprägung der Lymphozytosen variiert bei den Me-Me Gleitpaarungen, was auf ein multifaktorielles Geschehen hinweist. So könnten beispielsweise die Endoprothesenbelastung, die Operationstechnik und das Prothesendesign eine Rolle spielen. In der eigenen Untersuchung war die CD3-Infiltration der Me-Me Gleitpaarung im Vergleich mit anderen Gleitpaarungen mit Abstand am größten.

In der Literatur wurde eine variable CD3-positive lymphozytäre Infiltration auch bei anderen Materialkombinationen beschrieben, unabhängig von allergischen Reaktionen auf das verwendete Implantat [VON DOMARUS, ROSENBERG, RÜTHER, ET AL. 2011]. Es wurden beispielsweise umschriebene Nekrobiosen bei Me-PE Gleitpaarungen beobachtet [VON DOMARUS, ROSENBERG, RÜTHER, ET AL. 2011; WILLERT, BUCHHORN, FAYYAZI, ET AL. 2005]. Aroukatos et al. fanden auch bei Ker-PE Gleitpaarungen Lymphozyteninfiltrationen [AROUKATOS, REPANTI, REPANTIS, ET AL. 2010]. Die Abwehrreaktion des Körpers auf Fremdkörpermaterial in der SLIM ist also nicht auf Metallpartikel beschränkt. So zeigte sich bei der vorliegenden Untersuchung außer bei Me-Me Kombinationen auch ein lymphozytäres Infiltrat bei den anderen verwendeten Gleitpaarungen. Eine starke Ausprägung ist aber nur bei Me-Me Gleitpaarungen zu erkennen. Alle anderen Gleitpaarungen wiesen ein signifikant niedrigeres CD3-Infiltrat auf, schienen sich jedoch auch geringfügig voneinander zu unterscheiden. Da die hohe CD3-Quantität bei den Me-Me Gleitpaarungen Ausdruck einer adversen Reaktion auf Abriebmaterial darstellt, wurde statistisch ermittelt, ab welcher CD3-Quantität eine adverse Reaktion vorliegt. In der vorliegenden Untersuchung stellte sich der Fokus-Score von 447 Zellen/Fokus (Sensitivität=0,915, Spezifität=0,897) als zielführendes

diagnostisches Mittel dar. Dieser Zahlenwert wurde auf der Basis von Me-Me Gleitpaarungen erhoben. Er ist aber auf andere Gleitpaarungen übertragbar. So kann angenommen werden, dass bei einem Fokus-Score über 447 Zellen/Fokus die Endoprothesenlockerung auch auf eine partikelinduzierte Lymphozytose zurückzuführen sein könnte. Der CD3-Fokus-Score ist als ein Bestandteil der histopathologischen Diagnostik anzusehen und bietet erstmals einen validen statistisch ermittelten Zahlenwert für die CD3-Quantität. Quantitative Bewertungen von Zellen besitzen in der histopathologischen und immunhistochemischen Diagnostik generell einen immer größeren diagnostischen Stellenwert [KÖLBEL, WIENERT, DIMITRIADIS, ET AL. 2015; FIEHN, ENGEL, HOLCK, ET AL. 2016; MORAWIETZ, TIDDENS, MUELLER, ET AL. 2009; TOSCO, MAGLIO, PAPARO, ET AL. 2015].

Bei Ker-Ker Gleitpaarungen fanden sich die wenigsten T-Lymphozyten, gefolgt von Ke-PE und Me-PE. Ob die geringen Unterschiede zwischen diesen Gleitpaarungen klinisch bedeutsam sind, bleibt offen.

In einer Studie von 2011, in der sie 28 gelockerte Me-PE Endoprothesen untersuchten, fanden v. Domarus et al. in 23 Fällen Nekrobiosen. In allen Fällen wurden CD3-positive Lymphozyteninfiltrate gefunden. In dieser Arbeit wurde ausschließlich eine semiquantitative Quantifizierung durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Untersuchung decken sich weitgehend mit der vorliegenden Arbeit. Me-PE Gleitpaarungen wiesen nach Me-Me Gleitpaarungen das höchste Infiltrat von CD3-positiven Lymphozyten auf.

Lymphozytäre Infiltrate waren beim vorliegenden Kollektiv in größerem Ausmaß nur bei Anwesenheit von Abriebpartikeln zu beobachten. Membranen ohne Abriebpartikel, die von Arthrofibrosepatienten stammten, zeigten keine oder nur ganz geringe lymphozytäre Reaktionen. Dies deckt sich nur teilweise mit einer Studie aus dem Jahre 2001 von Bosch et al. Sie untersuchten Arthrofibrosepatienten nach zurückliegender Kniegelenksoperation. Sie fanden eine variabel ausgebildete CD3-positive Lymphozytose, die sich mit zunehmendem zeitlichen Abstand zur Operation verringerte [BOSCH, ZEICHEN, SKUTEK, ET AL. 2001]. Auch im eigenen Kollektiv wurden bei Arthrofibrosenfällen CD3-positive Lymphozytosen beobachtet. Diese waren aber bei weitem nicht so stark ausgeprägt wie bei den Fällen mit Abriebpartikeln. Insofern besteht im vorliegenden Kollektiv ein hochsignifikanter Unterschied zwischen den Typ I

und Typ IV Membranen. Ein Vergleich zur gesunden Gelenkkapsel konnte nicht gezogen werden.

5.4 Mögliche pathogene Ursachen supramakropartikulärer Partikel

Die durch den Abrieb erzeugten PE-Partikel sind in der Regel eher mikropartikulär (kleiner 100µm) [KRETZER, ZIETZ, SCHRÖDER, ET AL. 2012; SCHRÖDER, REINDERS, ZIETZ, ET AL. 2013]. Auffällig war, dass eine kleine Gruppe der untersuchten Patienten Supramakropartikel aufwies (100µm-2200µm). Die Ursache für die Entstehung dieser atypischen Partikel ist nicht entgültig geklärt. Es wurde beobachtet, dass diese Supramakropartikel vorwiegend bei Endoprothesen auftraten, die eine sehr lange Standzeit aufwiesen.

Eine mögliche Erklärung besteht in der Versprödung des PE-Materials über lange Zeit im aggressiven Körpermilieu. Die Verschlechterung der Materialeigenschaften könnte ein Abreißen größerer Partikel erklären. Eine weitere Hypothese für das Auftreten von Supramakropartikeln bei „alten“ Endoprothesen ist, dass sich der Kopf allmählich in das weiche PE eingräbt und es dadurch an der Kante der Polyethylenpfanne zur Zunahme von pathologischen Anschlagsphänomenen kommt (siehe Bild).

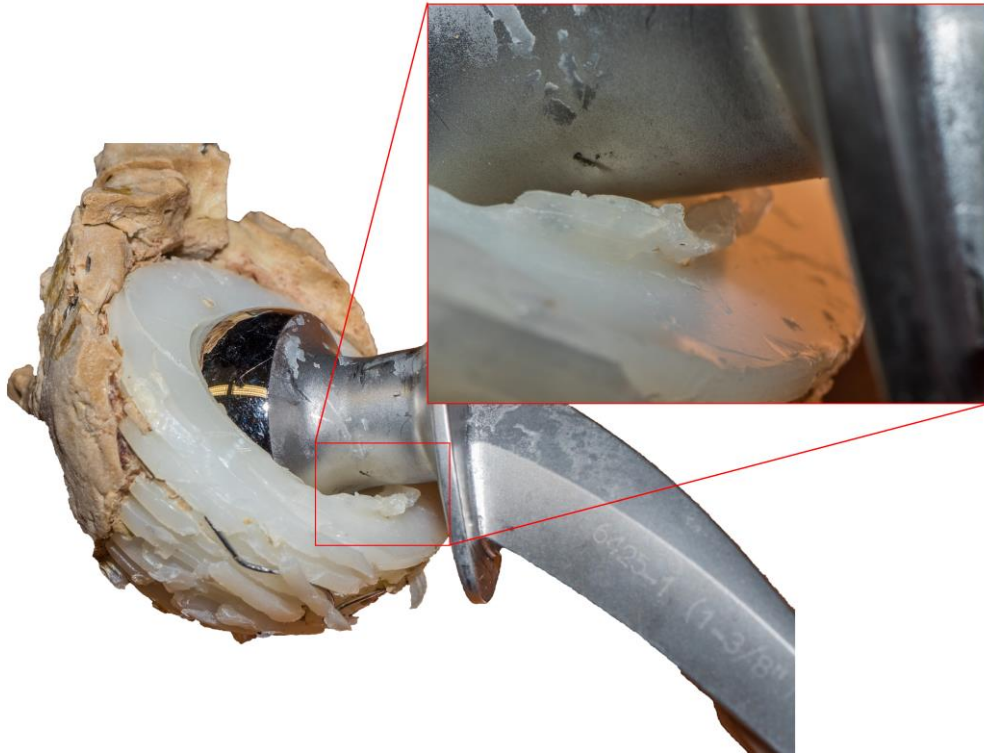


Abbildung 41: Anschlag bei Me-PE Kombination mit massivem PE-Abrieb.
[Orthopädie, Brüderkrankenhaus Trier]

Am Kniegelenk wäre dies durch eine unphysiologische Scherbelastung bei Bandinstabilitäten oder Achsfehlern eine denkbare Ursache. Im Knie scheinen die Supramakropartikel häufiger zu existieren [HIRAKAWA, BAUER, STULBERG, ET AL. 1996]. Zusätzlich wird noch der Abtrag von supramakropartikulärem PE aufgrund von Drittkörperverschleiß durch beispielsweise PMMA diskutiert [KRENN, HOPF, THOMAS, ET AL. 2016]. Die Pathogenese scheint also multifaktoriell bedingt zu sein und nicht allein durch die variable Standzeit erklärbar. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, wo der Abrieb von supramakropartikulärem PE einzuordnen ist.



Abbildung 42: Unikondyläre Schlittenprothese (Johnson&Johnson) bei vorderer Kreuzbandinstabilität – unphysiologische Belastung des dorsalen Tibiaplateaus mit massivem PE-Abrieb. [Orthopädie, Brüderkrankenhaus Trier]

5.5 Bewertung der CD3-Quantifizierungssoftware („CD3-Quantifier“)

Die Quantifizierung der CD3-Zellen unter dem Mikroskop war mit erheblichem Zeitaufwand verbunden. So wurden bei Präparaten mit vielen Zellen Zählzeiten von bis zu 25 Minuten pro Präparat erreicht. Aus diesem zeitlichen Aufwand entsprang die Idee einer automatisierten Auszählung. Eine computergesteuerte Quantifizierung könnte nicht nur wertvolle Zeit einsparen, sondern auch Fehlerquellen reduzieren.

Von der Firma VmScope Berlin GmbH wurde bereits ein Quantifier für CD15-Zellen, der erfolgreich in der histopathologischen Diagnostik eingesetzt wird, entwickelt [KÖLBEL, WIENERT, DIMITRIADIS, ET AL. 2015]. Eine Etablierung eines CD3-Quantifiers analog des CD15-Quantifiers ist somit ein logischer Schritt. Die Entwicklung des CD3-Quantifiers erwies sich allerdings als schwierig. So führte der anfängliche Plan, den Algorithmus des CD15-Quantifiers zu modifizieren und auf den CD3-Quantifier zu übertragen, nur zu unbefriedigenden Ergebnissen. Durchschnittlich wurde nur jede vierte Zelle erkannt. War die Genauigkeit bei Präparaten mit wenig zu erkennenden Zellen noch akzeptabel, versagte der Algorithmus der Software vor allem bei konfluierenden Zellanhäufungen.

So wurden nah beieinanderliegende Zellen oft als eine Zelle zusammengefasst. Die Untersuchung zeigte, dass der Quantifier in der ersten Version nicht nutzbar war.

Ein Jahr später entwickelte VmScope einen neuen Algorithmus für den CD3-Quantifier. Die Ergebnisse waren wesentlich vielversprechender. Die Zählungen der Software lagen erheblich näher an der tatsächlichen Zellzahl. Bei manchen Präparaten mit sehr vielen Zellen kam es jedoch durch das Konfluenzproblem zu starken Abweichungen (siehe Bild).

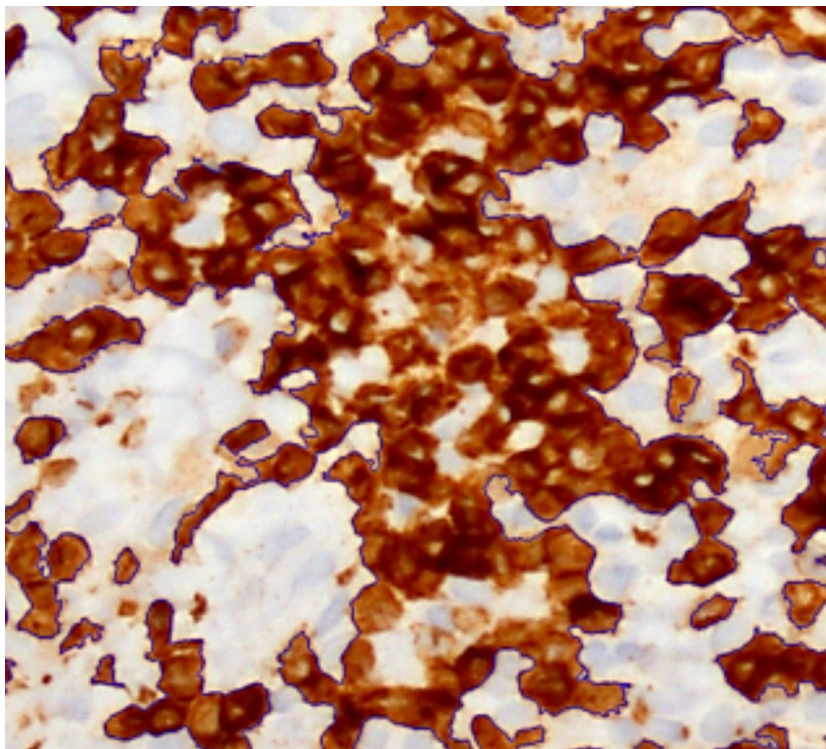


Abbildung 43: Auch der neue Quantifier kann konfluierende Zellen noch nicht voneinander unterscheiden. Die blaue Umrandung zeigt, dass der Quantifier konfluente Zellen als eine Zelle erfasst.

5.6 Anforderungen der Studie

Grundlage der Untersuchung sind die eingesandten Präparate aus mehreren verschiedenen Kliniken. Als weitere Daten stehen die individuellen persönlichen Daten (Patientenalter und Geschlecht) und in etwa zwei Drittel der Fälle die Standzeit der Endoprothese zur Verfügung. In allen Fällen ist die verwendete Gleitpaarung bekannt. Hinweise auf die sonstigen Eigenschaften der Endoprothese (Verankerungstyp, erkennbare Materialschäden) liegen aber nicht vor. Die Studie erlaubt eine Korrelation zwischen Abriebpartikeln, CD3-positiven Lymphozyten und verwendeter Gleitpaarung.

Die Auswahl des Gewebes, das eingeschickt wird, trifft der Operateur während des Eingriffs. Er neigt dazu, die typischste Stelle einer Gewebsveränderung dem Pathologen zuzusenden. Es ist aber durchaus denkbar, dass bei relativ partikelarmen Membran ausgerechnet das partikelreichste Stück entnommen und eingesandt wurde. Umgekehrt kann aus einem sehr partikelreichen Gewebe zufällig eine Region mit relativ wenig Partikeln ausgewählt und eingesandt worden sein.

Durch die große Fallzahl von insgesamt 222 Präparaten ist zu erwarten, dass eine Entnahme an untypischer Stelle nicht so sehr ins Gewicht fällt. Dabei hat nur die zweite Annahme (Einsendung eines partikelarmen Bezirks einer an sich partikelreichen Membran) eine Bedeutung auf das Ergebnis. Es könnte beispielsweise sein, dass wir bei einer Me-Me Kombination die massig vorhandenen Partikel und die damit begründete lymphozytäre Reaktion nicht detektieren.

Des Weiteren sollte das Prinzip des „worst area grading“ erst ab einer gewissen Anzahl von Präparaten angewendet werden, da es bei geringen Fallzahlen sonst zur Verzerrung der Ergebnisse kommen kann. Es hat sich als zuverlässige Methode bei der histopathologischen Diagnostik von entzündlichen Erkrankungen erwiesen [SCHOLZEN AND GERDES 2000; KRENN, MORAWIETZ, BURMESTER, ET AL. 2006].

Von vielen Einsendern wird nicht immer zwischen Neokapsel und periprothetischer Membran unterschieden. Ein entsprechender Vermerk fehlt oft in den Begleitdokumenten des Gewebes. Für die vorliegende Untersuchung ergibt sich also das

Dilemma, dass man zwar den Partikelgehalt und die lymphozytäre Reaktion beschreiben, aber man nicht wissen kann, ob sie sich in der periprothetischen Membran oder in der Ersatzkapsel des Gelenkes abgespielt hat. Die Konsensusklassifikation stellt jedoch fest, dass hinsichtlich Abriebmaterial und lymphozytärer Reaktion die Vorgänge in Ersatzkapsel und SLIM gleichartig ablaufen. Die Anzahl und Verteilung der Lymphozyten ist bei beiden Geweben ähnlich. Ob sie exakt vergleichbare Werte liefern ist noch nicht abschließend geklärt.

Bei der Quantifizierung der Zellen kann es zu Zählfehlern kommen, besonders dann, wenn das Präparat sehr viele Zellen beinhaltet (Problem der Konfluenz). Daher muss die Auszählung dieser zellreichen Schnitte sehr sorgfältig erfolgen, damit bei eng benachbarten Zellen die Zählung nicht unvollständig ist. Durch Verwendung moderner Computersoftware können die Zählfehler aber gut minimiert werden, indem gezählte Zellen markiert werden und so Doppelzählungen vermieden werden können.

Die eingesandten Gewebe betrafen zu 51% die Hüfte und zu 49% das Kniegelenk. Bei der Auswertung der Daten sind hier zwei systematische Fehler denkbar:

1. Es wird davon ausgegangen, dass gleiche Partikelmengen in Hüfte und Knie jeweils die gleiche CD3-Quantität hervorrufen. Es könnte theoretisch sein, dass das Kniegelenk auf das Auftreten von Partikeln grundsätzlich anders reagiert als das Hüftgelenk.
2. Die zahlenmäßige Verteilung der Gleitpaarungen ist im Kniegelenk grundsätzlich anders als beim Hüftgelenk. Bei Kniegelenksendoprothesen kommt praktisch nur die Gleitpaarung Me-PE vor, während bei Hüftgelenksendoprothesen bei den untersuchten Patienten insgesamt 4 verschiedene Gleitpaarungen vorkamen.

Diese beiden potentiellen Fehlerquellen wurden bei den Patienten untersucht. Der Vergleich der Me-PE Kombination an Hüft und Kniegelenkspräparaten zeigt, dass die CD3-Quantität sehr ähnlich ist. Eine gelenkspezifisch unterschiedlich Reaktion in Hüft- und Kniegelenk ist daher nicht zu erwarten. Dadurch führen auch die unterschiedlichen Gleitpaarungen an Hüft- und Kniegelenken nicht zu einer systematischen Verfälschung der Studie.

In der Studie wurden die gefundenen Partikel mit der bekannten Gleitpaarung korreliert, da man davon ausgeht, dass an den Gleitflächen die größte Menge an Abrieb produziert wird. Es gibt aber Sonderfälle in denen diese Voraussetzung nicht stimmt. Beispielsweise kann bei der Lockerung eines Implantats auch an den Verankerungsflächen der Endoprothese Abrieb durch Mikrobewegungen entstehen. So kann eine Endoprothese mit einer Ker-Ker Gleitpaarung im Rahmen der Lockerung auch Metallpartikel aus dem Verankerungsbereich absondern. Diese wären dann aus Titan oder Cr-Co-Mb. Gleichermaßen können auch Zementpartikel im Verlauf des Lockerungsprozesses freierwerden, ohne dass der Zement an der Gleitbewegung teilnimmt. Im vorliegenden Kollektiv wurden aber niemals Metallpartikel an einer Endoprothese mit Nichtmetall-Gleitpaarung gefunden, sodass offensichtlich in den vorliegenden Fällen der Materialabtrag an der Verankerungsfläche der Endoprothese keine wichtige Rolle spielt. Zementpartikel dagegen wurden in den einigen Fällen unabhängig von der Art der Gleitpaarung gefunden. Die statistische Auswertung zeigte, dass das Vorliegen von Zementpartikeln die CD3-Quantität nicht entscheidend beeinflusste.

Bei einem Impingement der Endoprothese kommen Materialien in Kontakt, die kein gutes Gleitverhalten haben. Außerdem kann es zur übermäßigen Materialbeanspruchung kommen. Die Folge ist ein stark erhöhter Materialabtrag an der Kontaktstelle, der die Partikelreaktion im Weichteilgewebe entscheidend beeinflusst. Die zelluläre Reaktion wird dann durch diese Partikel dominiert und ist nicht Abbild des relativ geringen Materialverschleißes in der Gleitpaarung. In einem solchen Falle würde man beispielsweise bei einer Ker-PE Gleitpaarung sehr viele Partikel aus PE oder Metall finden. Ein extremer Materialverschleiß entsteht dann, wenn nach langen Prothesenstandzeiten eine der Gleitflächen durchgerieben ist und der Kopf der Prothese beginnt, gegen die metallische Pfanne zu artikulieren (siehe Abbildung 44).

Im vorliegenden Kollektiv wurden derartige Fälle von extremem Metallabrieb bei einer Nicht Me-Me Gleitpaarung nicht gefunden.

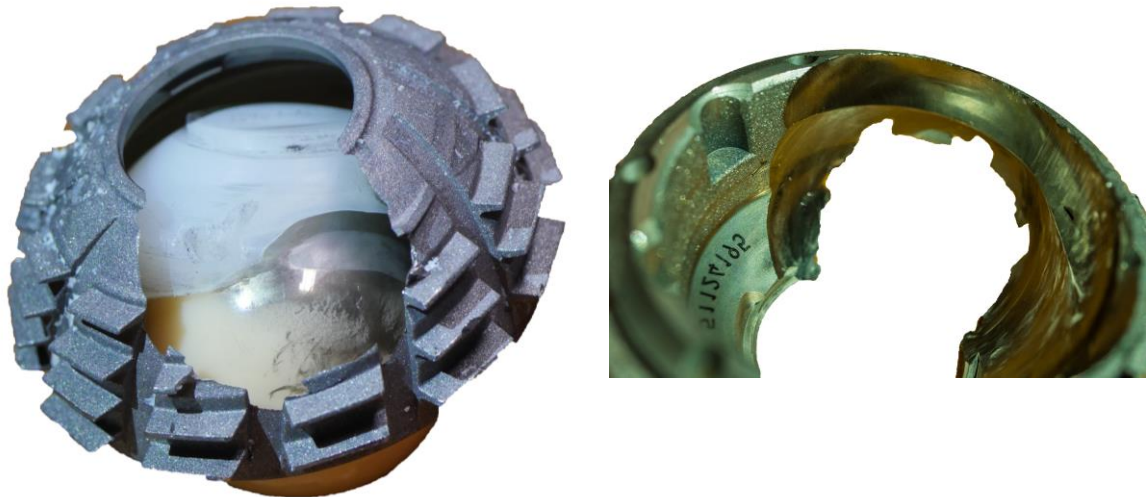


Abbildung 44: Bei dieser Ker-PE Gleitpaarung (Aesculap) kommt es zu Metallabrieb, da die PE-Pfanne komplett durchgerieben wurde und der Keramikkopf am Titankorb schleift und diesen destruiert (gleicher Fall wie Abbildung 14, exemplarischer Fall).
[Orthopädie, Brüderkrankenhaus Trier]

Des Weiteren kann trotz negativer allergologischer kutaner Befunde eine Allergie auf die implantierte Endoprothese nie vollständig ausgeschlossen werden.

6. Literaturverzeichnis

- AROUKATOS, P., REPANTI, M., REPANTIS, T., BRAVOU, V., AND KOROVESSIS, P. 2010. Immunologic adverse reaction associated with low-carbide metal-on-metal bearings in total hip arthroplasty. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 468, 8, 2135–2142.
- BERRY, D.J., HARMSSEN, W.S., CABANELA, M.E., AND MORREY, B.F. 2002. Twenty-five-year survivorship of two thousand consecutive primary Charnley total hip replacements: factors affecting survivorship of acetabular and femoral components. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume* 84-A, 2, 171–177.
- BOSCH, U., ZEICHEN, J., SKUTEK, M., HAEDER, L., AND VAN GRIENSVEN, M. 2001. Arthrofibrosis is the result of a T cell mediated immune response. *Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy: official journal of the ESSKA* 9, 5, 282–289.
- CARLSSON, A. AND MÖLLER, H. 1989. Implantation of orthopaedic devices in patients with metal allergy. *Acta Dermato-Venereologica* 69, 1, 62–66.
- DEHAVEN, K.E., COSGAREA, A.J., and Sebastianelli, W.J. 2003. Arthrofibrosis of the knee following ligament surgery. *Instructional Course Lectures* 52, 369–381.
- DEIRMENGIAN, C., KARDOS, K., KILMARTIN, P., GULATI, S., CITRANO, P., AND BOOTH, R.E. 2015. The Alpha-defensin Test for Periprosthetic Joint Infection Responds to a Wide Spectrum of Organisms. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 473, 7, 2229–2235.
- VON DOMARUS, C., ROSENBERG, J.P., RÜTHER, W., AND ZUSTIN, J. 2011. Necrobiosis and T-lymphocyte infiltration in retrieved aseptically loosened metal-on-polyethylene arthroplasties. *Acta Orthopaedica* 82, 5, 596–601.
- ETHGEN, O., BRUYÈRE, O., RICHY, F., DARDENNES, C., AND REGINSTER, J.Y. 2004. Health-related quality of life in total hip and total knee arthroplasty. A qualitative and systematic review of the literature. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume* 86-A, 5, 963–974.
- FIEHN, A.-M.K., ENGEL, U., HOLCK, S., MUNCK, L.K., AND ENGEL, P.J.H. 2016. CD3 immunohistochemical staining in diagnosis of lymphocytic colitis. *Human Pathology* 48, 25–31.
- F. LINTNER, G.B. 2003. Histologisch-immunhistologische, morphometrische und bakteriologische Untersuchungen des Gelenkkapselgewebes nach Reoperation totaler Hüftendoprothesen unter Verwendung der Metall/Metallpaarung. *Osteol. Osteologie* 12, 04, 233–246.
- FRANGIAMORE, S.J., SALEH, A., GROSSO, M.J., KOVAC, M.F., HIGUERA, C.A., IANOTTI J.P., RICCHETTI, E.T., 2015. α -Defensin as a predictor of periprosthetic shoulder infection. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery / American Shoulder and Elbow Surgeons ...* 24, 7, 1021–1027.
- GEHRKE, T., SERS, C., MORAWIETZ, L., FERNAHL, G., NEIDEL, J., KRENN .V., 2003. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand is expressed in resident and inflammatory cells in aseptic and septic prosthesis loosening. *Scandinavian Journal of Rheumatology* 32, 5, 287–294.
- GOLDRING, S.R., SCHILLER, A.L., ROELKE, M., ROURKE, C.M., O'NEIL, D.A., AND HARRIS, W.H. 1983. The synovial-like membrane at the bone-cement interface in loose total hip replacements and its proposed role in bone lysis. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume* 65, 5, 575–584.

- GOLLWITZER, H., BURBKART, R., DIEHL, P., GRADINGER, R., AND BÜHREN, V. 2006. [Therapy of arthrofibrosis after total knee arthroplasty]. *Der Orthopäde* 35, 2, 143–152.
- GRANCHI, D., CIAPETTI, G., STEA, S., CAVEDAGNA D., BETTINI N., BIANCO T., FONTANESI G., PIZZOFERRATO A. 1995. Evaluation of several immunological parameters in patients with aseptic loosening of hip arthroplasty. *La Chirurgia Degli Organi Di Movimento* 80, 4, 399–408.
- HANSEN, T., OTTO, M., BUCHHORN, G.H., SCHARNWEBER D., GAUMANN A., DELANK K.S., ECKARDT A., WILLERT H.G., KRIEGSMANN J., KIRKPATRICK C.J. 2002. New aspects in the histological examination of polyethylene wear particles in failed total joint replacements. *Acta Histochemica* 104, 3, 263–269.
- HILLIENHOF, A. 2013. Krankenhäuser: Zahl der Operationen auf Rekordhoch. *Dtsch Arztebl* 2013; 110(44): A-2048 / B-1812 / C-1772 *Dtsch Arztebl* 2013; 110(44): A-2048 / B-1812 / C-1772, *Dtsch Arztebl* 2013; 110(44): A-2048 / B-1812 / C-1772.
- HIRAKAWA, K., BAUER, T.W., STULBERG, B.N., AND WILDE, A.H. 1996. Comparison and quantitation of wear debris of failed total hip and total knee arthroplasty. *Journal of Biomedical Materials Research* 31, 2, 257–263.
- ITONAGA, I., SABOKBAR, A., MURRAY, D.W., AND ATHANASOU, N.A. 2000. Effect of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand on osteoclast formation by arthroplasty membrane derived macrophages. *Annals of the Rheumatic Diseases* 59, 1, 26–31.
- JELL, G., KERJASCHKI, D., REVELL, P., AND AL-SAFFAR, N. 2006. Lymphangiogenesis in the bone-implant interface of orthopedic implants: importance and consequence. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A* 77, 1, 119–127.
- KÖLBEL, B., WIENERT, S., DIMITRIADIS, J., KENDOFF D., GEHRKE T., HUBER M., FROMMELT L., TIEMANN A., SAEGER K., KRENN V. 2015. [CD15 focus score for diagnostics of periprosthetic joint infections : Neutrophilic granulocytes quantification mode and the development of morphometric software (CD15 quantifier)]. *Zeitschrift Für Rheumatologie* 74, 7, 622–630.
- KONERMANN, H. AND MÜLLER, R.T. 1987. [Surgical treatment possibilities in aseptic and septic loosening of endoprostheses of the hip]. *Zeitschrift Für Gerontologie* 20, 2, 97–102.
- KRENN, V., HOPF, F., THOMAS, P., THOMSEN M., USBECK S., BOETTNER F., MÜLLER S., SABERI D., HÜGLE T., HUBER M., SCHEUBER L., HOPF J.C., KRETZER J.P. 2016. [Supramacroparticulate polyethylene in inflammation of synovial-like interface membranes : Characterization and suggested nomenclature]. *Der Orthopäde*.
- KRENN, V., KÖLBEL, B., HUBER, M., TIEMANN A., KENDOFF D., WIENERT S., BOETTNER F., GEHRKE T. 2015. [Revision arthroplasty : Histopathological diagnostics in periprosthetic joint infections]. *Der Orthopäde* 44, 5, 349–356.
- KRENN, V., KRETZER, J.P., THOMAS, P., THOMSEN, M., USBECK, S., SCHEUBER, L., BOETTNER, F., RÜTHER, W., SCHULZ, S., ZUSTIN, J., HUBER, M. 2013. Update on endoprosthesis pathology: Particle algorithm for particle identification in the SLIM. *Seminars in Arthroplasty* 24, 4, 265–275.
- KRENN, V., MORAWIETZ, L., BURMESTER, G.-R., KINNE R.W., MUELLER-LADNER U., MULLER B., HAUPL T. 2006. Synovitis score: discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis. *Histopathology* 49, 4, 358–364.
- KRENN, V., MORAWIETZ, L., PERINO, G., KIENAPFEL H., ASCHERL R., HASSENPFUG G.J., THOMSEN M., THOMAS P., HUBER M., KENDOFF D., BAUMHOER D., KRUKEMEYER M.G., NATU S., BOETTNER F., ZUSTIN

- J., KÖLBEL B., RÜTHER W., KRETZER J.P., TIEMANN A., TRAMPUZ A., FROMMELT L., TICHLOW R., SÖDER S., MÜLLER S., PARVIZI J., ILLGNER U., GEHRKE T. 2014. Revised histopathological consensus classification of joint implant related pathology. *Pathology, Research and Practice* 210, 12, 779–786.
- KRENN, V., OTTO, M., MORAWIETZ, L., HOPF, T., JAKOBS, M., KLAUSER, W., SCHWANTES, B., GEHRKE, T. 2009. Histopathologische Diagnostik in der Endoprothetik: Periprothetische Neosynovialitis, Hypersensitivitätsreaktion und Arthrofibrose. *Der Orthopäde* 38, 6, 520–530.
- KRENN, V., PERINO, G., KRENN, V.T., WIENERT, S., SABERI, D., HÜGLE, T., HOPF, F., HUBER M. 2016. Histopathologische Diagnostik von Gelenkendoprothesen-assoziierten Erkrankungen. *Der Hautarzt*.
- KRENN, V., THOMAS, P., THOMSEN, M., KRETZER J.P., USBECK S., SCHEUBER L., PERINO G., RÜTHER W., v WELSER R., HOPF F., HUBER M. 2014a. [Histopathological particle algorithm. Particle identification in the synovia and the SLIM]. *Zeitschrift Für Rheumatologie* 73, 7, 639–649.
- KRETZER, J.P., ZIETZ, C., SCHRÖDER, C., REINDERS J., MIDDELBORG L., PAULUS A., SONNTAG R., BADER R., UTZSCHNEIDER S., 2012. [Principles of tribological analysis of endoprotheses]. *Der Orthopäde* 41, 10, 844–852.
- KUBO, T., SAWADA, K., HIRAKAWA, K., SHIMIZU, C., TAKAMATSU, T., AND HIRASAWA, Y. 1999. Histiocyte reaction in rabbit femurs to UHMWPE, metal, and ceramic particles in different sizes. *Journal of Biomedical Materials Research* 45, 4, 363–369.
- LALOR, P.A., REVELL, P.A., GRAY, A.B., WRIGHT, S., RAILTON, G.T., AND FREEMAN, M.A. 1991. Sensitivity to titanium. A cause of implant failure? *The Journal of Bone and Joint Surgery. British Volume* 73, 1, 25–28.
- LOBENHOFFER. 1999. Therapie der Arthrofibrose Operative Therapie der Arthrofibrose. *Arthroskopie* 12: 252–259
- MAHENDRA, G., PANDIT, H., KLISKEY, K., MURRAY, D., GILL, H.S., AND ATHANASOU, N. 2009. Necrotic and inflammatory changes in metal-on-metal resurfacing hip arthroplasties. *Acta Orthopaedica* 80, 6, 653–659.
- MALCHAU, H., HERBERTS, P., AND AHN FELT, L. 1993. Prognosis of total hip replacement in Sweden. Follow-up of 92,675 operations performed 1978-1990. *Acta Orthopaedica Scandinavica* 64, 5, 497–506.
- MCKENNA, P.B., O'SHEA, K., AND MASTERSON, E.L. 2009. Two-stage revision of infected hip arthroplasty using a shortened post-operative course of antibiotics. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery* 129, 4, 489–494.
- MOHR, W. 2000. Folgen artikulärer Therapien. In: *Gelenkpathologie*. Springer Berlin Heidelberg, 549–588.
- MORAWIETZ, L., CLASSEN, R.-A., SCHRÖDER, J.H., DYNBYL C., PERKA C., SKWARA A., NEIDEL J., GEHRKE T., FROMMELT L., HANSEN T., OTTO M., BARDEN B., AIGNER T., STIEHL P., SCHUBERT T., MEYER-SCHOLTEN C., KÖNIG A., STRÖBEL P., RADER C.P., KIRSCHNER S., LINTNER F., RÜTHER W., BOS I., HENDRICH C., KRIEGSMANN J., KRENN V. 2006. Proposal for a histopathological consensus classification of the periprosthetic interface membrane. *Journal of Clinical Pathology* 59, 6, 591–597.

- MORAWIETZ, L., TIDDENS, O., MUELLER, M., TOHTZ S., GANSUKH T., SCHROEDER J.H., PERKA C., KRENN V. 2009. Twenty-three neutrophil granulocytes in 10 high-power fields is the best histopathological threshold to differentiate between aseptic and septic endoprosthesis loosening. *Histopathology* 54, 7, 847–853.
- ORTHOWORLD INC, O.I. 2013. The Orthopaedic Industry Annual Report, For Year Ending December 31, 2012. .
- OTTO, M., KRIEGSMANN, J., GEHRKE, T., AND BERTZ, S. 2006. [Wear particles: key to aseptic prosthetic loosening?]. *Der Pathologe* 27, 6, 447–460.
- PANDEY, R., DRAKOULAKIS, E., AND ATHANASOU, N.A. 1999. An assessment of the histological criteria used to diagnose infection in hip revision arthroplasty tissues. *Journal of Clinical Pathology* 52, 2, 118–123.
- PANDIT, H., GLYN-JONES, S., MCLARDY-SMITH, P., GUNDLE R., WHITWELL D., GIBBONS C.L., OSTLERE S., ATHANASOU N., GILL H.S., MURRAY D.W. 2008. Pseudotumours associated with metal-on-metal hip resurfacings. *The Journal of Bone and Joint Surgery. British Volume* 90, 7, 847–851.
- PAP, G., MACHNER, A., RINNERT, T., HÖRLER D., GAY R.E., SCHWARZBERG H., NEUMANN W., MICHEL B.A., GAY S., PAP T. 2001. Development and characteristics of a synovial-like interface membrane around cemented tibial hemiarthroplasties in a novel rat model of aseptic prosthesis loosening. *Arthritis and Rheumatism* 44, 4, 956–963.
- PARK, Y.-S., MOON, Y.-W., LIM, S.-J., YANG, J.-M., AHN, G., AND CHOI, Y.-L. 2005. Early osteolysis following second-generation metal-on-metal hip replacement. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume* 87, 7, 1515–1521.
- PEERSMAN, G., LASKIN, R., DAVIS, J., AND PETERSON, M. 2001. Infection in total knee replacement: a retrospective review of 6489 total knee replacements. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 392, 15–23.
- PETERS, P.D. MED K.M., FRITZEN, D. MED M.E., AND KLOSTERHALFEN, B. 2008. Aseptische versus septische Hüft-TEP-Lockerung: Gibt es zelluläre Unterschiede? In: P.D. med K.M. Peters and P.D. med D.P. König, eds., *Fortbildung Osteologie 2. Steinkopff*, 85–87.
- PHILPOTT, A., WESTON-SIMONS, J.S., GRAMMATOPOULOS, G., BEJON P., GILL H.S., MCLARDY-SMITH P., GUNDLE R., MURRAY D.W., PANDIT H. 2014. Predictive outcomes of revision total hip replacement--a consecutive series of 1176 patients with a minimum 10-year follow-up. *Maturitas* 77, 2, 185–190.
- PISTOOR, F.H.M., KAPSENBERG, M.L., BOS, J.D., MEINARDI M.M., VON BLOMBERG M.E., SCHEPER R.J. 1995. Cross-Reactivity of Human Nickel-Reactive T-Lymphocyte Clones with Copper and Palladium. *Journal of Investigative Dermatology* 105, 1, 92–95.
- PLITZ, W., VEIHELMANN, A., AND PELLENGAHR, C. 2003. [Metal-on-metal pairs for hip prostheses]. *Der Orthopäde* 32, 1, 17–22.
- RAMOS-VARA, J.A. AND MILLER, M.A. 2014. When tissue antigens and antibodies get along: revisiting the technical aspects of immunohistochemistry--the red, brown, and blue technique. *Veterinary Pathology* 51, 1, 42–87.
- RICHTER-KUHLMANN, E.A. 2008. Ganze Produktgruppen werden vom Markt verschwinden. *Dtsch Arztebl* 2008; 105(1-2): A-16 / B-14 / C-14.

- RÜTT, A. 1977. Zur Ätiopathogenese der aseptischen Auslockerung von Hüftgelenktotalendoprothesen. *Archiv für orthopädische und Unfall-Chirurgie, mit besonderer Berücksichtigung der Frakturenlehre und der orthopädisch-chirurgischen Technik* 88, 2, 139–152.
- SCHÄFER, T., BÖHLER, E., RUHDORFER, S., WEIGL L., WESSNER D., FILIPIAK B., WICHMANN H.E., RING J. 2001. Epidemiology of contact allergy in adults. *Allergy* 56, 12, 1192–1196.
- SCHOLZEN, T. AND GERDES, J. 2000. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *Journal of Cellular Physiology* 182, 3, 311–322.
- SCHRÖDER, C., REINDERS, J., ZIETZ, C., UTZSCHNEIDER, S., BADER, R., AND KRETZER, J.P. 2013. Characterization of polyethylene wear particle: The impact of methodology. *Acta Biomaterialia* 9, 12, 9485–9491.
- SHARKEY, P.F., HOMESLEY, H.D., SHASTRI, S., JACOBY, S.M., HOZACK, W.J., AND ROTHMAN, R.H. 2004. Results of revision total knee arthroplasty after exposure of the knee with extensor mechanism tenolysis. *The Journal of Arthroplasty* 19, 6, 751–756.
- SHARKEY, P.F., LICHSTEIN, P.M., SHEN, C., TOKARSKI, A.T., AND PARVIZI, J. 2014. Why are total knee arthroplasties failing today--has anything changed after 10 years? *The Journal of Arthroplasty* 29, 9, 1774–1778.
- SKRIPITZ, R. AND ASPENBERG, P. 2000. Pressure-induced periprosthetic osteolysis: a rat model. *Journal of Orthopaedic Research: Official Publication of the Orthopaedic Research Society* 18, 3, 481–484.
- SONG, Z., BORGWARDT, L., HØIBY, N., WU, H., SØRENSEN, T.S., AND BORGWARDT, A. 2013. Prosthesis Infections after Orthopedic Joint Replacement: The Possible Role of Bacterial Biofilms. *Orthopedic Reviews* 5, 2.
- THOMAS, P., SCHUH, A., RING, J., AND THOMSEN, M. 2008. [Orthopedic surgical implants and allergies: joint statement by the implant allergy working group (AK 20) of the DGOOC (German association of orthopedics and orthopedic surgery), DKG (German contact dermatitis research group) and dgaki (German society for allergology and clinical immunology)]. *Der Orthopäde* 37, 1, 75–88.
- THOMAS, P., THOMAS, M., SUMMER, B., DIETRICH K., ZAUZIG M., STEINHAUSER E., KRENN V., ARNHOLDT H., FLAIG M.J. 2011. Impaired wound-healing, local eczema, and chronic inflammation following titanium osteosynthesis in a nickel and cobalt-allergic patient: a case report and review of the literature. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume* 93, 11, e61.
- THYSSEN, J.P., JAKOBSEN, S.S., ENKILDE, K., JOHANSEN, J.D., SØBALLE, K., AND MENNÉ, T. 2009. The association between metal allergy, total hip arthroplasty, and revision. *Acta Orthopaedica* 80, 6, 646–652.
- TOSCO, A., MAGLIO, M., PAPARO, F., GRECO, L., TRONCONE, R., AND AURICCHIO, R. 2015. Discriminant score for celiac disease based on immunohistochemical analysis of duodenal biopsies. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 60, 5, 621–625.
- ULRICH, S.D., SEYLER, T.M., BENNETT, D., DELANOIS R.E., SALEH K.J., THONGTRANGAN I., KUSKOWSKI M., CHENG E.Y., SHARKEY P.F., PARVIZI J., STIEHL J.B., MONT M.A. 2008. Total hip arthroplasties: What are the reasons for revision? *International Orthopaedics* 32, 5, 597–604.

- URBAN, R.M., JACOBS, J.J., GILBERT, J.L., AND GALANTE, J.O. 1994. Migration of corrosion products from modular hip prostheses. Particle microanalysis and histopathological findings. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume* 76, 9, 1345–1359.
- WENGLER, A., NIMPTSCH, U., AND MANSKY, T. 2014. Hip and knee replacement in Germany and the USA: analysis of individual inpatient data from German and US hospitals for the years 2005 to 2011. *Deutsches Ärzteblatt International* 111, 23-24, 407–416.
- WEYAND, C.M., GEISLER, A., BRACK, A., BOLANDER, M.E., AND GORONZY, J.J. 1998. Oligoclonal T-cell proliferation and interferon-gamma production in periprosthetic inflammation. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology* 78, 6, 677–685.
- WILLERT, H. AND BUCHHORN, G. 1999. The biology of the loosening of hip implants. .
- WILLERT, H.-G., BUCHHORN, G.H., FAYYAZI, A., FLURY R., WINDLER M., KÖSTER G., LOHMANN C.H. 2005. Metal-on-metal bearings and hypersensitivity in patients with artificial hip joints. A clinical and histomorphological study. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume* 87, 1, 28–36.
- WOLFARTH, D.L., HAN, D.W., BUSHAR, G., AND PARKS, N.L. 1997. Separation and characterization of polyethylene wear debris from synovial fluid and tissue samples of revised knee replacements. *Journal of Biomedical Materials Research* 34, 1, 57–61.
- ZEICHEN, J., VAN GRIENSVEN, M., LOBENHOFFER, P., AND BOSCH, U. 2000. [Expression of type VI collagen in arthrofibrosis. An immunohistochemical study]. *Der Unfallchirurg* 103, 8, 640–644.
- ZEICHEN, J., HAEDER, L., JAGODZINSKI, M., LOBENHOFFER, P., BOSCH, U., AND BRAND, J. 2008. [Localisation of TGF-beta and PDGF and their relevance for the pathogenesis of arthrofibrosis]. *Der Unfallchirurg* 111, 2, 79–84.
- ZUSTIN, J., AMLING, M., KRAUSE, M., BREER S., HAHN M., MORLOCK M.M., RÜTHER W., SAUTER G. 2009. Intraosseous lymphocytic infiltrates after hip resurfacing arthroplasty : a histopathological study on 181 retrieved femoral remnants. *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology* 454, 5, 581–588.

7. Anhang

7.1 Verzeichnis der Abbildungen, Tabellen und Formeln

Abbildung 1: Anzahl der primären Hüft- und Knieimplantationen in Deutschland [Statistisches Bundesamt 2007-2012].....	1
Abbildung 2: Aseptisch gelockerter Schaft einer Hüft-TEP (Pfeile zeigen Resorptionszonen des Knochens bei Ausbildung einer SLIM, Nativröntgen) [Orthopädie, Brüderkrankenhaus Trier].....	3
Abbildung 3: Anzahl der Revisions/Wechseloperationen von Hüft- und Knieprothesen in Deutschland [Statistisches Bundesamt 2007-2012].....	4
Abbildung 4: Die Konsensusklassifikation [Morawietz, Classen, Schröder, et al. 2006; Krenn, Morawietz, Perino, et al. 2014].....	6
Abbildung 5: Membrantypen I-IV [Morawietz, Classen, Schröder, et al. 2006; Krenn, Morawietz, Perino, et al. 2014].....	7
Abbildung 6: Infiltration von CD3-positiven Lymphozyten bei einer Me-Me Gleitpaarung.....	9
Abbildung 7: Aufbau einer zementfreien Zweymüller Hüftendoprothese mit Me-PE Gleitpaarung [Orthopädie, Brüderkrankenhaus Trier].....	10
Abbildung 8: Die gängigen Materialpaarungen bei Hüftendoprothesen [Orthopädie, Brüderkrankenhaus Trier].....	12
Abbildung 9: Bikondylärer Oberflächenersatz (Genesis II, Smith&Nephew) des Kniegelenkes [Orthopädie, Brüderkrankenhaus Trier].....	13
Abbildung 10: Der Partikelalgorithmus [Krenn, Hopf, Thomas, et al. 2016].....	21
Abbildung 11: PE-Partikel einer Me-PE Gleitpaarung in der polarisationsoptischen Analyse,.....	22
Abbildung 12: Metallpartikel in der SLIM mit hoher CD3-Quantität, immunhistochemische Darstellung von CD3-Lymphozyten.....	23
Abbildung 13: CD3 an PMMA Partikeln einer zementierten Me-PE Endoprothese (PMMA befand sich in den Riesenzellen, wurde bei der Gewebeprozessierung herausgelöst), immunhistochemische Darstellung von CD3-Lymphozyten.....	24
Abbildung 14: Keramikpartikel (schwarz) mit geringer lymphozytärer Reaktion bei Ker-Ker Gleitpaarung, immunhistochemische Darstellung von CD3-Lymphozyten.....	25
Abbildung 15: Schwere Metallose bei einer entfernten periprothetischen Membran. Bei dieser Ker-PE Gleitpaarung hat der Prothesenkopf das PE-Inlay durchgeschliffen und dann gegen den Titankorb der Pfanne artikuliert (gleicher Fall wie Abbildung 21). [Orthopädie, Brüderkrankenhaus Trier].....	26
Abbildung 16: Supramakropartikel in einer Typ I SLIM mit einer Größe von circa 1040 µm (oben in der polarisationsoptischen Analyse), HE-Färbung.....	27
Abbildung 17: Bei hoher CD3-Quantität wird jede einzelne Zelle manuell am PC markiert, um Mehrfachzählungen zu vermeiden.....	28
Abbildung 18: CD3 Quantifier bei geringer Zelldichte: Die gelben Umrandungen markieren die Zellen, die der Computer als Zelle erkannt hat. Bis auf wenige Zellen, hat der Computer korrekt gearbeitet. ..	29

Abbildung 19: CD3 Quantifier bei hoher Zelldichte: Hier fasst der Computer viele nah beieinanderliegende Zellen als eine große auf oder „erkennt“ konfluente Zellen nicht.....	29
Abbildung 20: Anzahl der verschiedenen Gleitpaarungen im Hauptkollektiv (n=222).	31
Abbildung 21: Verteilung des Patientenalters	32
Abbildung 22: Altersverteilung bei männlichen und weiblichen Patienten	33
Abbildung 23: Patientenalter aufgeschlüsselt nach Gleitpaarung.....	33
Abbildung 24: Anzahl der CD3-positiven Lymphozyten bei den verschiedenen Gleitpaarungen.....	34
Abbildung 25: CD3-Quantität bei SLIM Typ I und SLIM Typ IV	35
Abbildung 26: CD3-Quantität aufgeschlüsselt nach Gleitpaarung und histologischem Typ.....	36
Abbildung 27: Anzahl der CD3-positiven Lymphozyten bei den verschiedenen Gleitpaarungen aufgeschlüsselt nach histologischem Typ der SLIM.....	37
Abbildung 28: Ermittlung eines CD3 Grenzwertes für Me-Me Gleitpaarungen.....	38
Abbildung 29: Korrelation der CD3-Quantitäten bei den verschiedenen Gleitpaarungen mit der Standzeit der Endoprothese.	43
Abbildung 30: Korrelation der CD3-Quantitäten bei den verschiedenen Gleitpaarungen mit der Standzeit der Endoprothese- lineare Regression.....	43
Abbildung 31: Korrelation zwischen CD3-Quantität und Patientenalter (alle Gleitpaarungen).....	44
Abbildung 32: CD3-Quantität bei Me-PE Gleitpaarungen in Hüft- und Kniegelenken.	46
Abbildung 33: CD3-Quantitäten bei Patienten mit und ohne Kontaktallergie	48
Abbildung 34: Vergleich der manuellen Auszählung (blau) mit den Ergebnissen des Quantifiers (rot) bei 30 fotografierten Präparaten.....	49
Abbildung 35: Fehlerrate des Quantifiers in Abhängigkeit zur Anzahl der CD3-Zellen	50
Abbildung 36: Fehlerrate des Quantifiers in Abhängigkeit zur Anzahl der CD3-Zellen mit graphischer Darstellung der linearen Regression	51
Abbildung 37: Vergleich der manuellen Auszählung (blau) mit den Ergebnissen des Quantifiers Version 0.9 (rot) und des neuen Quantifiers Version 1.0 (grün) bei 30 fotografierten Präparaten.....	52
Abbildung 38: Vergleich der Zählfehler des Quantifiers Version 0.9 (rot) und 1.0 (grün)	52
Abbildung 39: lineare Regression der Zählfehler des Quantifiers Version 0.9 (rot) und 1.0 (grün)	54
Abbildung 40: Prothesenstandzeit bei Präparaten mit und ohne Supramakropartikeln	55
Abbildung 41: Anschlag bei Me-PE Kombination mit massivem PE-Abrieb. [Orthopädie, Brüderkrankenhaus Trier].....	64
Abbildung 42: Unikondyläre Schlittenprothese (Johnson&Johnson) bei vorderer Kreuzbandinstabilität – unphysiologische Belastung des dorsalen Tibiaplateaus mit massivem PE-Abrieb. [Orthopädie, Brüderkrankenhaus Trier].....	65
Abbildung 43: Auch der neue Quantifier kann konfluierende Zellen noch nicht voneinander unterscheiden. Die blaue Umrandung zeigt, dass der Quantifier konfluente Zellen als eine Zelle erfasst.....	66
Abbildung 44: Bei dieser Ker-PE Gleitpaarung (Aesculap) kommt es zu Metallabrieb, da die PE-Pfanne komplett durchgerieben wurde und der Keramikkopf am Titankorb schleift und diesen destruiert (gleicher Fall wie Abbildung 14, exemplarischer Fall). [Orthopädie, Brüderkrankenhaus Trier]	70

Tabelle 1: Anzahl der verschiedenen Gleitpaarungen im Hauptkollektiv (n=222).	31
Tabelle 2: Mittelwerte und Standardabweichungen der CD3-Quantitäten bei den verschiedenen Gleitpaarungen.	35
Tabelle 3: Mittelwerte und Standardabweichungen der CD3-positiven Lymphozyten aufgeschlüsselt nach Material und histologischem Typ der SLIM.	38
Tabelle 4: Mittelwerte und Standardabweichungen der CD3-Quantitäten bei Hüft- und Kniegelenken. ...	45
Tabelle 5: Mittelwert, Medianwert und Standardabweichung der CD3-Quantitäten in Hüft- und Kniegelenken (nur Me-PE-Gleitpaarung).	45
Tabelle 7: Mittelwert, Medianwert und Standardabweichung der CD3-Quantität bei Patienten mit und ohne Kontaktallergie.	48
Tabelle 8: Mittelwerte und Standardabweichungen der Prothesenstandzeiten bei Präparaten mit und ohne supramakropartikulärem PE	54
Formel 1: Levine-Test.....	40
Formel 2: Welsh`s t-Test: Me-Me vs. Ker-Ker	40
Formel 3: Welsh`s t-Test: Me-PE vs. Ker-Ker	40
Formel 4: Welsh`s t-Test: Ker-PE vs. Ker-Ker	41
Formel 5: Welsh`s t-Test: Me-Me vs. Me-PE	41
Formel 6: Welsh`s t-Test: Me-Me vs. Ker-PE.....	41
Formel 7: Welsh`s t-Test: Me-PE vs. Ker-PE.....	41
Formel 8: Welsh`s t-Test: SLIM Typ I vs. SLIM Typ IV	42
Formel 9: Welsh`s t-Test: Knie- vs. Hüftendoprothesen	46
Formel 10: Univariate Varianzanalyse (ANOVA)	47
Formel 11: Welch´s t-Test: Patienten mit Kontaktallergie vs. Patienten ohne Kontaktallergie	48
Formel 12: Lineare Regression der Fehlerrate des Quantifiers	50
Formel 13: lineare Regression der Zählfehler beider Quantifier	53
Formel 14: Welch´s t-Test: Me-PE Gleitpaarung mit Supramakropartikeln vs. Me-PE Gleitpaarung ohne Supramakropartikeln.....	55

7.2 Curriculum vitae

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

7.3 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Felix Hopf, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Materialabhängige CD3-Response in der SLIM bei dysfunktionalen Gelenkendoprothesen selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum:

Unterschrift

7.4 Veröffentlichungen

In PubMed gelistete Publikationen:

Krenn, V., **Hopf, F.**, Thomas, P., Thomsen, M., Usbeck, S., Boettner, F., Müller, S., Saberi, D., Hügler, T., Huber, M., Scheuber, L., Hopf, J.C. and Kretzer, J.P., 2016. [Supramacroparticulate polyethylene in inflammation of synovial-like interface membranes : Characterization and suggested nomenclature]. *Der Orthopade*, 2013:1-9.

KRENN, V., THOMAS, P., THOMSEN, M., KRETZER, J.P., USBECK, S., SCHEUBER, L., PERINO, G., RÜTHER, W., v WELSER, R., **HOPF, F.** AND HUBER, M., 2014. [Histopathological particle algorithm. Particle identification in the synovia and the SLIM]. *Zeitschrift Für Rheumatologie*, Vol. 73, No. 7, p. 639–649.

KRENN, V., PERINO, G., KRENN, V.T., WIENERT, S., SABERI, D., HÜGLE, T., **HOPF, F.** AND HUBER, M., 2016. Histopathologische Diagnostik von Gelenkendoprothesen-assoziierten Erkrankungen. *Der Hautarzt*. Forthcoming 2016.

Publizierte Abstracts:

KRENN, V., THOMAS, P., THOMSEN, M., USBECK, S., SCHEUBER, L., BOETTNER, F., RÜTHER, W., **HOPF, F.**, MÜLLER, S., KRUKEMEYER, M.G., GEHRKE, T., KENDOFF, D., TIEMANN, A. AND HUBER, M., n.d. Implant-associated pathology: an algorithm for Identifying particles In histopathologic synovialis/slim diagnostics. *Traumatology and Orthopaedics of Russia*, 2014: 15-27.

Aufgeforderte Preiseinreichung durch CeramTec:

Heinz-Mittelmeier-Forschungspreis 2016

7.5 Danksagung

Mein größter Dank gilt selbstverständlich Herrn Professor Krenn, der mir diese Arbeit nicht nur ermöglichte, sondern mich auch durch exzellente Betreuung jeden Tag motivierte.

Ich möchte auch meiner Familie danken, insbesondere meinem Vater Professor Thomas Hopf und meinem Bruder Maximilian Hopf, die mir immer mit gutem Rat zur Seite standen.

Mein weiterer Dank gilt Frau Giak, die mir bei vielen praktischen Problemen geholfen hat und Herrn Wienert und Herrn Saeger, die die Entwicklung des CD3-Quantifiers möglich machten.