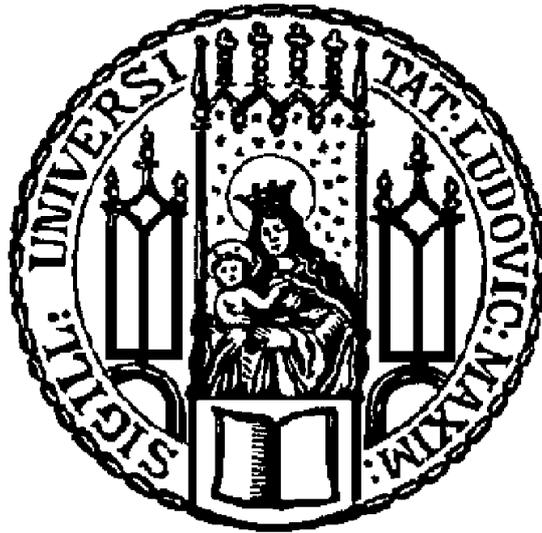


**Aus der Klinik und Poliklinik für Orthopädie, Physikalische Medizin und
Rehabilitation**

Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München

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



Erstellung eines Modells zur Messung des
Endotoxin-Adhärenz-Verhaltens diverser Biomaterialien
in Abhängigkeit von der Rauheit ihrer Oberfläche

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Vorgelegt von

Simon Brosseder

2020

**Aus der Klinik und Poliklinik für Orthopädie, Physikalische Medizin und
Rehabilitation**

Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München

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

Erstellung eines Modells zur Messung des
Endotoxin-Adhärenz-Verhaltens diverser Biomaterialien
in Abhängigkeit von der Rauheit ihrer Oberfläche

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Simon Brosseder

aus

München

2020

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatterin: Prof. Dr. med. Sandra Utzschneider
Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Gerd Regel
PD Dr. med. Jörg Hausdorf
Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Alexander Paulus
Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard HICKEL
Tag der mündlichen Prüfung: 30.01.2020

Für

MELANIE, MINA, CARLA, SVEA

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	9
1.1. Allgemeines	9
2. Grundlagen	10
2.1. Endoprothetik	10
2.1.1. Die Geschichte der Endoprothetik	10
2.1.2. Aktueller Stellenwert der Endoprothetik in der Medizin	15
2.1.3. In der Endoprothetik eingesetzte Materialien und deren Anforderungsprofil	17
2.1.4. Abrieb und Verschleiß	19
2.1.5. Pathophysiologie der aseptischen Lockerung	20
2.2. Lipopolysaccharide	22
2.2.1. Die Entdeckung von Endotoxin	23
2.2.2. Biologische Aktivität und Immun-Reaktion auf Endotoxin	27
2.2.3. Lipopolysaccharide in Kombination mit periprothetischem Abrieb	32
2.3. Studienziel	33
3. Material und Methoden	33
3.1. Modell zur Messung der Adhärenz von Endotoxin an Biomaterialien	33
3.2. Materialien	34
3.3. Materialtabelle	34
3.4. Versuchsaufbau	38
3.5. Versuchsablauf	40
3.6. LAL-Assay	40
3.7. Statistische Auswertung	41
3.8. Vorversuch Polymethylmethacrylat	41
3.8.1. Ergebnis Polymethylmethacrylat	41
3.8.2. Auswertung Polymethylmethacrylat	42
3.8.3. Schlussfolgerungen aus dem Vorversuch	43
4. Ergebnisse	44
4.1. Messwerte	44

4.1.1	Polyetheretherketon (PEEK)	50
4.1.2	Polyethylen	51
4.1.3	Crosslinked – Polyethylen.....	52
4.1.4	Instrumenten – Stahl.....	54
4.1.5	Implantat – Stahl.....	55
4.1.6	Titan.....	56
4.2	Endotoxinbindung in Abhängigkeit der Rauheit aller getesteten Materialien	58
5.	Diskussion.....	60
6.	Zusammenfassung.....	66
7.	Literaturverzeichnis.....	68
8.	Abkürzungsverzeichnis	78
9.	Abbildungsverzeichnis:	80
10.	Danksagung.....	81
11.	Eidesstattliche Versicherung.....	83

1. Einleitung

1.1. Allgemeines

In der Orthopädie ist der künstliche Gelenkersatz als Folge einer fortgeschrittenen Arthrose einer der am häufigsten durchgeführten Eingriffe [1]. Leider stellt jedoch das Versagen von Kunstgelenken ein noch nicht vollständig gelöstes Problem dar. Selbst die aktuell implantierten Endoprothesen mit guten klinischen Ergebnissen lockern sich im Verlauf der Zeit [2, 3]. Dies führt zu Schmerzen im Bereich der einliegenden Endoprothese, und daraus resultierend zu Folgeoperationen [4]. In der Literatur sind heutzutage Standzeiten von mindestens 10 Jahren von 90 % - 95 % der eingesetzten Kunstgelenke zu fordern, damit sie als Implantat regelhafte Verwendung finden können [2, 5]. Es ist jedoch auch allgemein bekannt, dass die demografische Entwicklung zu einer Steigerung der Lebenserwartung führt [6]. Stellt man das mittlere Alter bei Implantation eines Kunstgelenkes jedoch der Standzeit von Endoprothesen gegenüber, zeigt sich eine deutliche Diskrepanz [7, 8]: Die Standzeiten erscheinen angesichts der gestiegenen Lebenserwartung nicht ausreichend. Daher scheint eine Zunahme der notwendigen Wechseloperationen, die dem Versagen der einliegenden Endoprothese geschuldet ist, in Zukunft unausweichlich [9-14]. Es liegt sicher im Interesse der Patienten, denen ein Kunstgelenk implantiert worden ist, wenn die Anzahl notwendiger Revisions – Operationen auch in Zukunft möglichst geringgehalten werden kann.

Ursache für die Limitation der Standzeiten ist unter anderem die Problematik, dass Kunstgelenke einer hohen mechanischen Beanspruchung ausgesetzt sind. Beachtet man den Fakt, dass ein gesunder Erwachsener im Schnitt pro Tag ca. 6.000 Schritte geht [15], kann leicht nachvollzogen werden, welchen Belastungen ein Kunstgelenk täglich ausgesetzt ist. Selbst bei den in der Medizin verwendeten hochwertigen Materialien führt dies im Verlauf der Zeit zu einem stetigen Verschleiß der Komponenten, welcher sich in zunehmendem Abrieb der Prothesenkomponenten niederschlägt [16, 17]. Die über die Standzeit entstehenden Abriebpartikel summieren sich und sind dem zu Folge nachweislich einer der Hauptgründe von Lockerungen der Implantate [11]. In diversen wissenschaftlichen Arbeiten, die sich mit dem Materialverschleiß und den Abriebpartikeln auseinandersetzen, wurden darüber

hinaus Bakterienbestandteile, sogenannte Endotoxine, an den untersuchten Partikeln nachgewiesen [18-21]. Endotoxine sind ubiquitär auftretende Anteile der Zellwand von Bakterien, die beim Untergang von gramnegativen Mikroorganismen freigesetzt werden [22]. Es ist bekannt, dass diese Zellwandbestandteile von Bakterien ebenfalls einen bedeutsamen Einfluss auf die Prothesenlockerung ausüben [20].

2. Grundlagen

2.1. Endoprothetik

2.1.1. Die Geschichte der Endoprothetik

Einer der wesentlichen Schwerpunkte der Orthopädie ist die Therapie degenerativer Gelenkerkrankungen [23-25]. Schon im späten 18. Jahrhundert wurden die ersten operativen Eingriffe durchgeführt, um bewegungseingeschränkten Gelenken eine verbesserte Funktion zu ermöglichen [26]. In der Literatur wird die bereits im Jahr 1770 von Charles White durchgeführte Resektion des Oberarmkopfes beschrieben, um einem osteomyelitisch eingesteiften Schultergelenk eine erneute Funktionsfähigkeit zu ermöglichen [26]. In der Folgezeit wurde zunächst führend an Resektionsarthroplastiken zur Funktionsverbesserung geforscht [26]. Im Jahr 1821 wurde erstmalig ein Eingriff am Hüftgelenk eines Menschen von dem englischen Chirurgen Anthony White beschrieben [26]. Der Eingriff dauerte damals laut durchführendem Operateur ca. 7 Minuten, allerdings in einem Stadium der medizinischen Entwicklung, in dem weder die Narkose noch antiseptische Maßnahmen bekannt waren [26]. Die Ergebnisse aus dieser Zeit waren allerdings nur bedingt zufriedenstellend, vor allem an der unteren Extremität wurde kaum ein belastbares Resultat erreicht [26].

Die Idee, ein nicht mehr funktionsfähiges Gelenk durch ein Kunstgelenk zu ersetzen, wurde von dem Chirurgen Themistocles Gluck im Jahr 1890 auf dem XIX. Congress der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie vorgestellt [27]. Er versuchte, mit Hilfe von Elfenbein einen belastbaren Ersatz des Kniegelenkes durch die Verankerung im Knochen zu erreichen [27]. Die postoperativen Infektionen waren jedoch nicht beherrschbar, ebenso versagte das Material [27] (Abbildung 1).

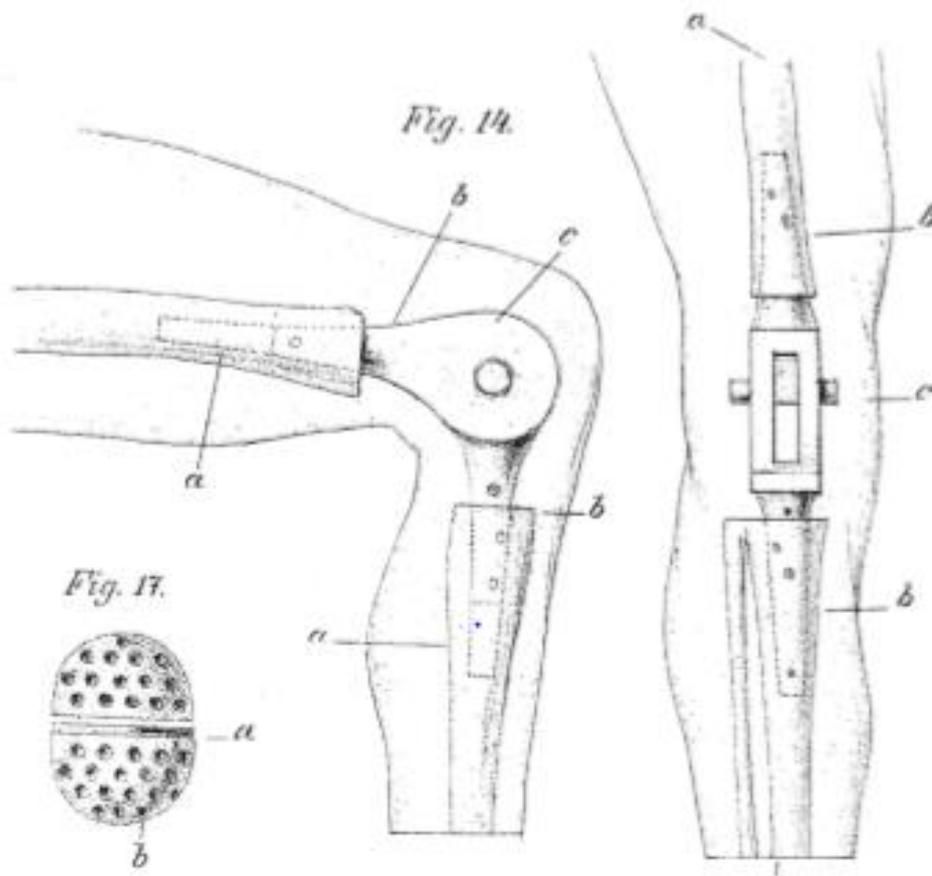


Abbildung 1: Prothese nach Gluck 1890 [27]

Der erste medizinisch relevant belastbare Hüftgelenkersatz wurde von Judet und Judet im Jahr 1950 beschrieben [28]. Aus Plexiglas wurde ein künstlicher Hüftkopf geformt, der operativ eingesetzt mit einem Zapfen im Oberschenkel verankert werden konnte [28]. Dieser Prothesentyp gilt insofern als der erste Typus von Hemiprothesen, bei dem ein Gelenkpartner künstlich ersetzt wird, während die entgegengesetzte Gelenkfläche körpereigen bestehen bleibt [28]. Dieser von Judet und Judet vorgestellte Prothesentyp wurde in der Fachwelt schnell akzeptiert [29], zeigte jedoch neben Materialversagen eine bis heute aktuelle und typische Komplikation des künstlichen Gelenkersatzes, der in dieser Arbeit noch mehr Aufmerksamkeit gewidmet werden wird, nämlich die Lockerung des Implantates [29] (Abbildung 2).

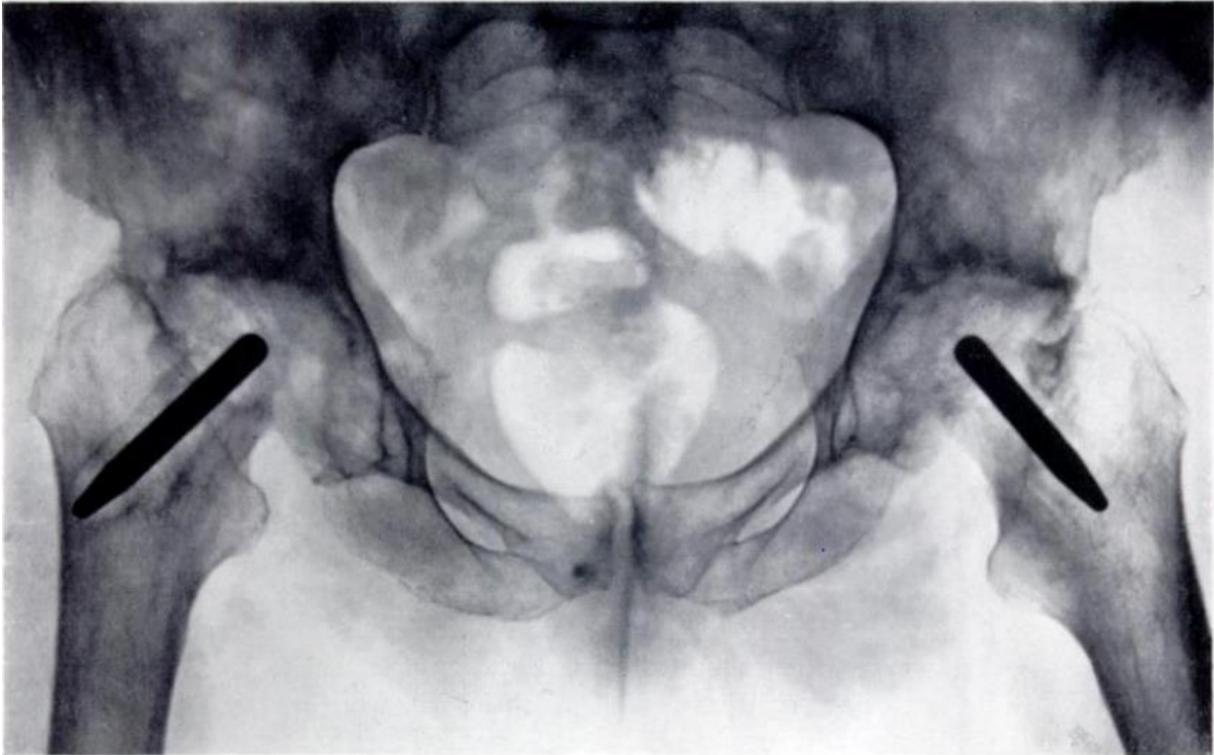


Abbildung 2: Femurkopfprothese nach Judet [28]

Die weitere Entwicklung im Bereich der Hüftendoprothetik verlief in der Folge ausgesprochen rasant. Erste erfolgversprechende Resultate des komplettem Gelenkersatz aus den 1930er Jahren konnten auf Grund des wissenschaftlichen Stillstandes während des 2. Weltkrieges zunächst nicht weiter verfolgt werden [29]. Relevante und belastbare Ergebnisse wurden jedoch bereits um 1950 wieder erreicht [30]. McKee stellte 1951 eine Totalendoprothese aus Metall vor, deren Komponenten mit Metallstiften im Acetabulum und einem intramedullären Stift am Femur gehalten wurden [30]. Ergänzend nutzte Haboush 1953 zur Verankerung des Implantates das aus der Zahnmedizin bereits bekannte Polymethylmethacrylat, um die Festigkeit der Prothesen zu erhöhen [31]. Die anfänglich hohe Infektionsrate konnte durch regelhaft angewandte Antibiotika – Therapien in den folgenden Jahren drastisch gesenkt werden [32]. Eine weitere Komplikation bestand jedoch in der starken Reibung der zunächst verwendeten gegeneinander artikulierenden Metallkomponenten und in dem Materialverschleiß, der mit dem aus der Gleitpaarung resultierenden Abrieb verbunden war [29]. Um eine Verbesserung zu erreichen, wurden andere Materialien auf ihre biomechanischen Eigenschaften untersucht [33]. Bereits in den späten 50er Jahren versuchte John Charnley, die Metallpfanne zunächst durch Teflon zu ersetzen, um die Reibung herabzusetzen [33]. Diese Komponente war jedoch nur eingeschränkt belastbar, so dass er schon 1963 auf hochverdichtetes Polyethylen überging [34]. In

der weiteren Forschung zeigten Müller und Buchholz Ende der 60er Jahre, dass durch einen vergrößerten Durchmesser der implantierten Hüftköpfe sowohl die Druckspitzen abnahmen und darüber hinaus das Luxationsrisiko der Hüftprothese minimiert werden konnte [29] .

Obwohl der erste künstliche Gelenkersatz am Kniegelenk vorgestellt worden ist, konnte eine erfolgreiche Oberflächenprothese am Kniegelenk erst 1968 von Gunston implantiert werden [35]. Gunston erkannte die Vorteile der Forschungsarbeiten von Charnley mit der Verwendung von unterschiedlichen Gleitpaarungen und entwickelte daraus eine modulare Prothesenlösung mit ungekoppelten Femurschlitten und entsprechenden Tibia-Inlays [35, 36]. Die Weiterentwicklung in der Knieendoprothetik zu Standzeiten von 90 % über mindestens 10 Jahren wurde in der Literatur in der Folge von Insall im Jahr 1982 berichtet [27] (Abbildung 3).



Abbildung 3: Insall-Burstein-Kniegelenk [27]

Die weitere Entwicklung der letzten 30 Jahre fokussierte sich auf stetige Verbesserung der Materialien, um den Abrieb zu minimieren, die knöcherne Einheilung zu verbessern und die Größe der verwendeten Implantate zu reduzieren, ohne jedoch die Standzeiten zu verringern oder Stabilität zu riskieren [37-40].

Damit werden aktuell in der Hüftgelenkendoprothetik Prothesen mit kurzem Schaft bei intramedullärer Verankerung im Femur als erstrebenswert angesehen [29] (Abbildung 4).

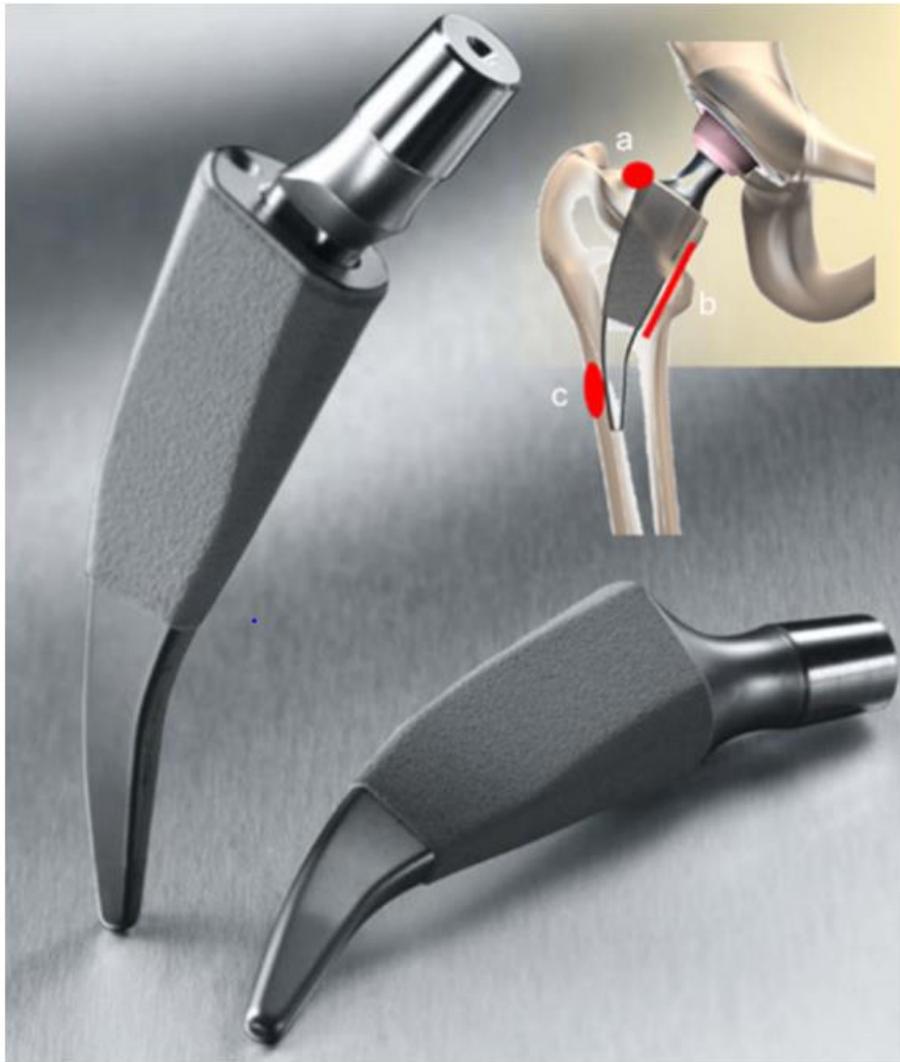


Abbildung 4: Kurzschaftprothese Typ Metha [41]

Außerdem sollte dabei möglichst knochensparend reseziert werden und die Krafteinleitung proximal am Femurschaft realisiert werden [42]. Durch die kleinere Implantatgröße und einem damit verbunden geringeren Operationstrauma ist eine schnellere Mobilisierung der Patienten möglich [42]. Auch die Implantation von geraden oder anatomisch geformten intramedullären Kraftträgern, die sich im weiter distal gelegenen Schaftbereich des Femurs verankern, wird weiterhin sowohl in der zementfreien als auch in der zementierten Variante regelhaft durchgeführt [29]. Die Implantation der Pfanne kann sowohl als metallischer Schraubring oder als Press-Fit

Komponente, oder aber auch alleinig einzementierte Polyethylenpfanne empfohlen werden [29].

In der Kniegelenkendoprothetik ist die Versorgung etwas differenzierter. Dies ist einerseits der komplexeren Biomechanik des Kniegelenkes als Roll-Gleit-Mechanismus [43, 44] geschuldet, als auch der anatomischen Besonderheit, dass nicht nur Femur und Tibia als Gelenkpartner für die korrekte Bewegung notwendig sind, sondern auch die Patella mit dem Femur eine Gelenkfläche aufweist [45]. Im Gegensatz dazu ist das Hüftgelenk als Kugelgelenk biomechanisch einfacher strukturiert [29]. Jedoch gilt auch für die Kniegelenkendoprothetik der Versorgungsgrundsatz, dass möglichst kleine Implantate mit einer hohen Lebensdauer eingesetzt werden sollten [27].

2.1.2. Aktueller Stellenwert der Endoprothetik in der Medizin

Die Endoprothetik ist ein auf der ganzen Welt weit verbreitetes und unumstritten etabliertes Verfahren in der Orthopädie [46]. Im internationalen Vergleich der OECD steht Deutschland direkt hinter den USA an der Spitze, was die Implantation von Hüftgelenk – Endoprothesen im Vergleich zur Einwohnerzahl betrifft [1]. Sie beläuft sich auf 284 Eingriffe / 100000 Einwohner jährlich [1]. Bei einer ungefähren Einwohnerzahl von gerundet 80 Millionen Einwohnern der Bundesrepublik Deutschland [47] ergibt das ungefähr 230.000 Patienten pro Jahr, die mittels operativem Eingriff mit künstlichen Hüftgelenken versorgt werden. In der Knie – Endoprothetik erreicht Deutschland hinter den USA und Österreich in der OECD Statistik den dritten Platz, mit 207 Eingriffen / 100000 Einwohner [1]. Dies bedeutet, dass jedes Jahr über 150.000 künstliche Kniegelenke in Deutschland implantiert werden.

Aus gesundheitsökonomischer Sicht ist die Endoprothetik als Teilbereich der Orthopädie damit ein volkswirtschaftlich hoch relevanter Faktor [48]. Am Gesamt-Etat der Krankenkassen für stationäre Behandlungen (DRG), haben die im Zusammenhang mit dem Gelenkersatz entstehenden Kosten den größten Anteil [13]. Betrachtet man die Gesamtanzahl der Operationen, die in Deutschland jährlich vorgenommen werden, gehört der künstliche Gelenkersatz zu den 20 am häufigsten durchgeführten Eingriffen [13]. Die Zuwachsraten an orthopädischen Eingriffen mit Implantation von Endoprothesen haben sich darüber hinaus in den letzten Jahrzehnten konstant

gesteigert [13]. Auf Grund der demografischen Entwicklung und der damit assoziierten Alterung der Gesellschaft in Deutschland wird auch in Zukunft mit einem weiteren Anstieg gerechnet werden dürfen [13].

Vor diesem Hintergrund ist einleuchtend, dass der Standzeit einer Endoprothese eine hohe Relevanz zukommt. Bei den aktuellen Prothesendesigns und den heute gängigen Operationstechniken wird eine Standzeit der implantierten Kunstgelenke von 10 Jahren mit mindestens 90 % angegeben [2, 14]. Für einen Großteil der Patienten wird durch die gesteigerte Mobilität und die reduzierte Schmerzbelastung nach Kunstgelenkersatz die Lebensqualität für viele Jahre deutlich erhöht [49, 50]. Nicht geleugnet werden kann jedoch, dass die primäre Endoprothetik in einer zunehmenden Anzahl der Fälle nicht ausreicht, woraus sich in der Regel die Notwendigkeit für die Revision des eingesetzten Kunstgelenkes ergibt [51]. Angesichts der steigenden Lebenserwartung der Bevölkerung sind die Fallzahlen der Revisionsendoprothetik damit ebenfalls zunehmend, und liegen nach aktuellen Daten sowohl bei der Knie – als auch Hüftgelenkendoprothetik bereits bei 10 % der vorgenommenen Eingriffe [52]. Das bedeutet, dass jährlich ungefähr 23.000 Hüftgelenke und über 15.000 Kniegelenke ausgetauscht werden müssen.

Die Revisionsendoprothetik ist mit einem deutlich höheren operativen Aufwand als die primäre Implantation eines Kunstgelenkes einhergehend [53]. Dieser Fakt allein steigert an sich schon das perioperative Risiko. Ergänzend leiden die Patienten jedoch altersbedingt häufiger an operationsrelevanten Nebenerkrankungen bei Wechseloperationen [53]. Diese beinhalten unter anderem Diabetes mellitus, Herz-Kreislaufkrankungen, Niereninsuffizienz und neurologische, dementielle Defizite [53]. Darüber hinaus ist bei einem Prothesenwechsel der Verlust von Knochen in der Regel in Kauf zu nehmen [54]. Auch die Stabilität des Gelenkes ist durch Beeinträchtigung des stabilisierenden Bandapparates im Vergleich reduziert [55]. Um diese Nachteile zu kompensieren, werden größere, teils gekoppelte Implantate verwendet, die mit frühzeitigem Verschleiß, Bewegungseinschränkung und einem schnelleren Verlust an Lebensqualität einhergehen [56]. Die Revisionsendoprothetik ist zusätzlich mit einer höheren Komplikationsrate behaftet. Durch den größeren operativen Aufwand ist eine längere OP-Dauer mit höherem Blutverlust assoziiert. Es steigt das kardioembolische Risiko, und die Infektionsraten sind mit ca. 7 % mehr als 3 – fach erhöht im Gegensatz zur Erstimplantation einer Endoprothese [57, 58].

Es bestehen mannigfaltige Ursachen für operative Revisionen implantierter Hüftgelenkendoprothesen. Typische Indikationen beinhalten Infektionen (17 %), Frakturen (18 %) und auch rezidivierende Luxationen (23 %). Der führende Grund für Revisionsoperationen und Wechsel von Endoprothesen ist jedoch die Lockerung der primären Prothesen [59]. Untersucht man nur die gelockerten Prothesen, können ebenfalls diverse Ursachen festgehalten werden. Es wurde nachgewiesen, dass sowohl das frühzeitige Materialversagen der eingesetzten Kunstgelenke (4 %), Infektion mit septischer Lockerung (14 %) als auch periprothetische Frakturen (5 %) zu einer Lockerung von Endoprothesen führen können [58]. Die häufigste Indikation für einen Wechsel der einliegenden Endoprothesen ist jedoch die aseptische Lockerung, verursacht durch eine reine Osteolyse, die als Spätkomplikation gewertet wird [2, 12, 58, 60].

Eine weitere Verbesserung der Standzeiten von primären Endoprothesen ist damit unbestritten ein vorherrschendes Ziel der orthopädischen Forschung.

2.1.3 In der Endoprothetik eingesetzte Materialien und deren Anforderungsprofil

Biomaterialien müssen mehreren, sich teils widersprechenden Anforderungen genügen [29]. Einerseits soll der Abrieb durch hartes, glattes Material möglichst gering gehalten werden [16], andererseits soll durch spröde und raue Oberflächenstruktur im Bereich der Knochen die Einheilung von zementfreien Implantaten beschleunigt werden [61]. Dieser als Osseointegration betitelte Prozess benötigt jedoch eine gewisse Rauheit des Bauteils [62]. Diese Diskrepanz führt zu der Verwendung von unterschiedlichen Rauheiten der Bauteile bei Endoprothesen, korrelierend mit dem Ort der Verwendung und der daraus resultierenden Funktion [16, 61].

Generell wird zwischen Materialien, die als Implantat im Knochen verankert werden, und Materialien, die als Gleitpaarung eingesetzt werden, unterschieden [63] (Abbildung 5 und Abbildung 6).



Abbildung 5: drei verschiedene femorale Komponenten einer Hüftprothese, deren Oberflächenstruktur deutlich raue Eigenschaften besitzen [64]



Abbildung 6: Querschnitt durch 2 aktuelle Polyethylen – Liner einer Hüftprothese mit glatter Oberfläche [65]

Die heutzutage eingesetzten Implantate werden bevorzugt aus Titan (Ti), Cobalt-Chrom (CoCr) oder Stahl gefertigt [27, 63, 66]. Dabei sind Stahl – Implantate heute primär für den zementierten Gelenkersatz im Gebrauch [63]. Als Zement für die Verankerung wird Polymethylmethacrylat (PMMA) bevorzugt [29].

Als Gleitpaarungen haben sich in der Knieendoprothetik Polyethylen (PE) – Inlays durchgesetzt [27, 67, 68], ebenso wird dieses Material als Pfannengleitlager in der Hüftendoprothetik bei Hart – Weich – Paarungen bevorzugt [29]. Seit mehr als 10 Jahren gibt es hochvernetzte, Crosslinked – Polyethylen – Inlays, deren strukturelle

Veränderung die Härte des Materials und das Abriebverhalten beeinflusst [27, 29, 69]. Auch der Einsatz von Polyetheretherketon in der Endoprothetik am Kniegelenk ist propagiert worden, um den Abrieb möglichst zu verringern, jedoch überzeugte das Material nicht ausreichend [70-72].

Alle Materialien, die heutzutage in der Endoprothetik eingesetzt werden, müssen nach Vorgaben der Gesellschaft für internationale Standardisierung hergestellt werden und dem Anforderungsprofil ihres Verwendungsortes (artikulierende Oberflächen am Kniegelenk, artikulierende Oberflächen am Hüftgelenk, und nicht artikulierender Oberflächen) entsprechen [73-75].

2.1.4 Abrieb und Verschleiß

Um die Mechanismen, die zu Abrieb führen, zu verstehen, werden zunächst die vier verschiedenen Arten von Abrieb, die nach DIN 50320 unterschieden werden, kurz erläutert [76, 77] (Abbildung 7).

Abrasiver Abrieb: Bei Gleitpaarungen, deren Oberfläche eine unterschiedliche Härte besitzt, können durch die Zwischenlagerung von harten Partikeln (Zement oder Knochen) am weicheren Kontaktpartner Rinnen und Gruben entstehen [78]. Dieser Mechanismus wird als Mikropflügen und Spananhebung bezeichnet. Durch die dadurch entstehende Oberflächenspannung kann eine Materialermüdung ausgelöst werden, resultierend in der Materialzerstörung. Die Folge ist die Freisetzung weiterer Partikel [78].

Adhäsiver Abrieb: An Kontaktflächen mit hohem Anpressdruck (N/m^2) lösen sich von einem der beiden Kontaktpartner Fragmente einer artikulierenden Oberfläche und adhäreren an der Oberfläche des gegenüberliegenden Kontaktpartners [78]. Diese Fragmente können sich in weiteren Zyklen von der Oberfläche des Kontaktpartners erneut lösen und sowohl danach als freier Abrieb zwischen den Kontaktpartnern verbleiben als auch an ihren Ursprung zurückversetzt werden [78].

Oberflächenermüdung: Durch rezidivierende Roll – Gleitbewegungen ermüdet das Material und es können oberflächennahe Brüche entstehen [78]. Die durch diesen Mechanismus freigesetzten Fragmente sind im Vergleich überwiegend größere Partikel als durch die anderen Formen des Abriebs entstehende Partikel [77, 79, 80]. An künstlichen Kniegelenken wurde dieser Prozess gut untersucht [81]. Es entstehen

oberflächennah gelbliche Regionen auf dem Material („white – band – phänomen“), wobei korrelierend 1 – 2 mm unter der Oberfläche des Kunstgelenkes zahlreiche feine Risse nachgewiesen werden können [81].

Tribochemischer Abrieb: Durch die biochemische Reaktion der Materialien mit der Umgebung entstehen Produkte, die durch die mechanische Belastung zerstört werden und zu weiterem Abrieb führen [78].

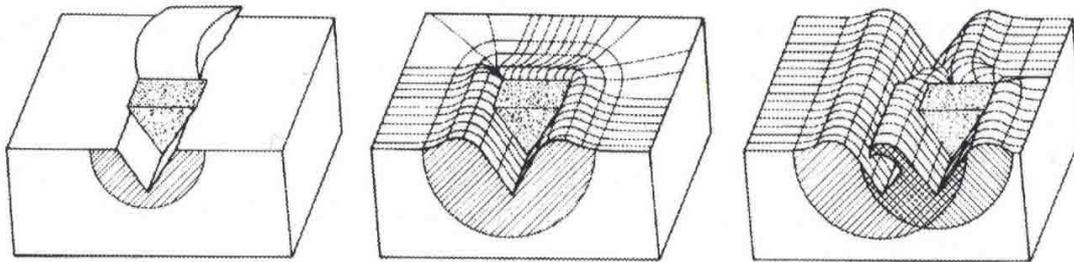


Abbildung 7: Sowohl bei der Spanabhebung (links) als auch der Mikroermüdung (rechts) entstehen Abriebpartikel, Beim Mikropflügen (Mitte) kommt es zu einer Seitverschiebung des Materials. Abrieb resultiert dabei nicht zwingend [78].

Es wird angenommen, dass bei jedem Schritt ca. 500.000 Abriebpartikel generiert werden [82]. Geht man von einer Schätzung von gerundet 2.000.000 Schritte pro Jahr aus [83, 84], und veranschlagt die Standzeit einer Endoprothese von 15 Jahren, ergibt das eine Gesamtzahl an Partikeln von 15.000.000.000.000 (15 Billionen). Die Oberfläche der Partikel variiert [85, 86]. Nimmt man eine mittlere Größe von $0,4 \mu\text{m}$ [86] und vereinfacht die Struktur auf eine Kugel, ergibt sich pro Partikel eine Oberfläche von $2,512 \mu\text{m}^2$ ($4\pi r^2$). Daraus resultiert bei der oben angenommenen Anzahl an Abriebpartikeln eine Gesamtoberfläche von knapp 40 m^2 ($37,68 \text{ m}^2$), die während der Standzeit einer einliegenden Endoprothese im menschlichen Körper entstehen und Reaktionen im menschlichen Immunsystem auslösen können.

2.1.5 Pathophysiologie der aseptischen Lockerung

Der Haupt – Mechanismus der Prothesenlockerung beruht auf dem durch Verschleiß entstehenden Abrieb [11, 16]. Dieser löst einen komplexen, inflammatorischen Prozess aus [11]. Durch die entstehenden Abriebpartikel wird über eine komplexe inflammatorische Kaskade eine lokale Osteolyse induziert [17, 87]. In dieser Kaskade konnten als unabhängige Faktoren die Anzahl, die Größe, die Form und das Volumen der Partikel nachgewiesen werden [85, 88]. Mehrere Versuche am Tiermodell haben

diese These bestätigt [89-92]. Osteolysen werden direkt durch Abriebpartikel induziert [90, 91, 93, 94].

Die Osteolyse ist dabei nur der Endpunkt der vorangegangenen inflammatorischen Kaskade [17]. Abriebpartikel sammeln sich im periprothetischen Gewebe und können dort von immunkompetenten Zellen als körperfremd erkannt werden [95]. Vor allem Makrophagen versuchen durch Phagozytose die Partikel intrazellulär zu binden, jedoch ist das auf Grund der Größe der Partikel nicht stets möglich [96]. Sind die Partikel zu groß, entstehen sogenannte Riesenzellen [97]. Sowohl bei der Phagozytose als auch bei der Bildung von Riesenzellen führt die Präsentation von Abriebpartikeln zu einer immunologischen Zellantwort [96]. Es werden inflammatorische Zytokine freigesetzt, welche nachweisbar einen direkten wie auch einen indirekten Einfluss auf den Knochenabbau zeigen [11, 97-99]. Daraus resultiert eine Osteolyse, in deren Folge es zur Lockerung der Prothese kommt [11] (Abbildung 8).

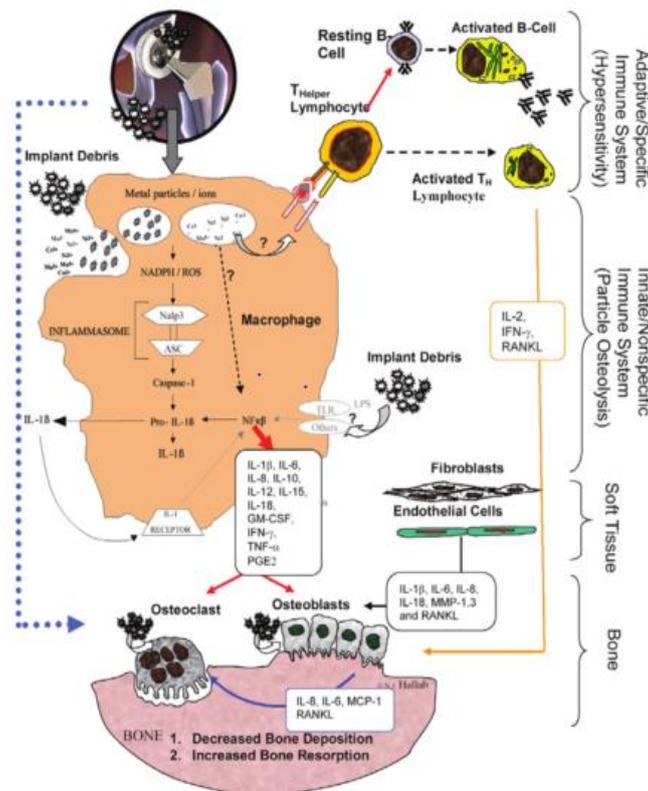


Abbildung 8: Die Abrieb – induzierte Entzündungskaskade [89].

So untersuchte Purdue 2007 histologisch bei Revisionsoperationen entferntes periprothetisches Gewebe [11]. Auffällig waren hohe Konzentrationen von Abriebpartikeln bei zeitgleich massiver Infiltration von Makrophagen [11]. Die in den

Makrophagen intrazelluläre nachgewiesene Konzentration an Abriebpartikeln lag dabei deutlich höher als in dem sie umgebenden Gewebe, so dass man von einer aktiven Phagozytose von Abrieb durch Makrophagen ausgehen konnte [11, 100, 101]. Durch die damit verbundene Freisetzung von proinflammatorischen Mediatoren (Prostaglandin E2, TNF- Alpha sowie IL – 1 – Beta und IL– 6) wird die entzündliche Reaktion auf Abriebpartikel getriggert [91, 102-104].

Für den Knochenabbau selbst sind jedoch Osteoklasten notwendig, da diese Zellen maßgeblich für die Resorption von Knochen verantwortlich sind [105]. Sie differenzieren sich aus Osteoprogenitorzellen, und entstammen der Zelllinie der Monozyten / Makrophagen [105]. Die erhöhte Neigung zur Differenzierung von Makrophagen zu Osteoklasten konnte dabei in perioperativ gewonnenem Gewebe nachgewiesen werden [106]. Die Osteoprogenitorzellen werden durch GM – CSF dazu stimuliert, sich in funktionsfähige Osteoklasten differenzieren [107-109]. Dazu bindet der durch die Abriebpartikel stimulierte Ligand, RANKL, am Oberflächenrezeptor RANK der Osteoprogenitorzellen [110-112]. Parallel dazu wird der physiologische Antagonist von RANKL, das Protein Osteoprotegerin, durch die Anwesenheit von Partikeln im Verhältnis reduziert und es resultiert wiederum eine Vermehrung der Osteoklasten [11, 111].

Die Abriebpartikel greifen dabei sowohl direkt als auch indirekt in der Kaskade auf die Transformation von Osteoprogenitorzellen in funktionsfähige Osteoklasten ein [97, 99, 103]. Direkter Einfluss kann bei Titanpartikeln nachgewiesen werden [103]. Sie supprimieren direkt die Expression von Gamma-Interferon und die Bildung von IL – 6 [103]. Auch PMMA – Partikel haben einen direkt hemmenden Effekt auf IL – 6 [97]. Die Induktion der Osteolyse durch die Expression von TNF – Alpha [98] sowie die RANKL Überaktivität [99, 113] sind als indirekte Effekte des Abriebs auf die Osteolyse beschrieben worden.

2.2 Lipopolysaccharide

In der Forschung wird ein weiterer, essentieller Faktor bei Lockerungen genannt. Abriebpartikel, an denen Lipopolysaccharide nachgewiesen werden, zeigen eine verstärkte inflammatorische Reaktion [18, 114, 115]. Die chemische Zusammensetzung dieser biologisch aktiven Substanz, bestehend aus einer Lipid-Gruppe, an der Polysaccharid-Ketten haften, ist für die Namensgebung von Lipopolysacchariden verantwortlich. Als Synonym äquivalent benutzt und ebenfalls

häufiger in der Literatur benutzt wird auch der historische Begriff Endotoxin angewandt, der aus der Beobachtung entstanden ist, dass sterbende Bakterien diese Toxine exprimieren [116]. Diese Moleküle erhöhen die osteoklastische Aktivität von Abriebpartikeln und aktivieren additiv die Lockerungskaskade [18].

2.2.1 Die Entdeckung von Endotoxin

Schon gegen 1900 konnte nachgewiesen werden, dass bei Infektionskrankheiten Bakterienbestandteile für die Immunantwort verantwortlich sind [117]. Initial wurden Proteine zur Verantwortung gezogen, die von lebenden Bakterien in die Umgebung freigesetzt werden [117]. Als Bezeichnung dieser Moleküle wurde aus dem griechischen die Bezeichnung Exotoxine übernommen [117]. Zu diesen stark temperaturanfälligen Toxinen wurde in der weiteren Forschung eine zweite, zusätzliche Toxin – Komponente entdeckt, die deutlich hitzestabiler war, aber nur von absterbenden Mikroorganismen freigesetzt wurde [116, 118].

Die Erstbeschreiber gingen davon aus, dass diese Toxine innerhalb der Bakterien vorzufinden sind, und bezeichneten diese demnach konsequenterweise als Endotoxine [119]. In weiteren Untersuchungen wurde jedoch festgestellt, dass gramnegative Bakterien diesen Bestandteil in ihrer Zellwand tragen [22, 119]. Diese Toxine bestehen aus einer zweilagigen Membran, wobei die innere Membran aus Phospholipiden aufgebaut ist, und der äußere Anteil variabel gestaltet ist und keiner symmetrischen Ordnung unterliegt [119] (Abbildung 9).

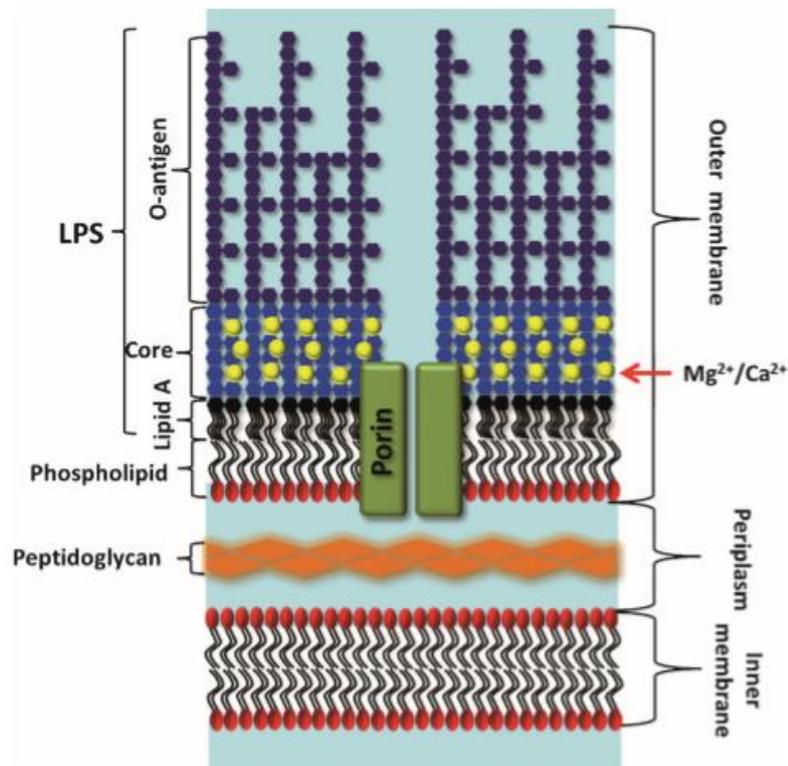


Abbildung 9: Die schematische Darstellung der Zellwand von gramnegativen Bakterien [120].

Dieser Aufbau der Zellmembran ist für das Bakterium lebensnotwendig [116]. Ohne diesen Bestandteil ist kein Nahrungstransport möglich [116]. Resultierend daraus ist das Überleben des Mikroorganismus von dieser Zellwandkomponente abhängig [116]. Zusätzlich sind zumindest Anteile des Endotoxins am Wachstum des Organismus beteiligt [119]. An E. Coli Stämmen konnte nachgewiesen werden, dass bei Abwesenheit zweier Bestandteile von Endotoxin, namentlich Lipid – A und zwei KDO – Moleküle, eine Einschränkung des Wachstums besteht [119].

Endotoxin wird erst beim Zerfall der Bakterien aus deren Zellwänden freigesetzt [116]. Die Oberflächenstruktur wird als molekulares Muster von Zellen des Immunsystems als pathogen erkannt und aktiviert dementsprechend eine Abwehrreaktion des Körpers [121]. Bereits kleinere Mengen der Lipopolysaccharide haben multiple nachgewiesene Effekte auf den menschlichen Körper [122]. Endotoxine induzieren bereits in niedriger Dosierung Fieber [122]. Sie lösen bei Erstkontakt initial Neutropenien aus, konsekutiv folgt eine Leukozytose [121]. Sie besitzen darüber hinaus das pathogene Potenzial, Knochenmarksnekrosen auszulösen [121]. Auch auf die Gefäßwände haben Endotoxine einen Einfluss, und bereits niedrige Dosen senken den Blutdruck [121]. Steigt die Dosis an Endotoxin, sind auch die Auswirkungen auf den menschlichen Organismus deutlich schwerwiegender. Sie induzieren schwere Diarrhoen [121].

Darüber hinaus wird der hämorrhagische Schock beschrieben [121]. Eine weitere Dosissteigerung führt zu neurologischen Symptomen [121]. Wird die Dosis weiter erhöht, droht der Tod [123]. Die letale Dosis (LD 50) wird im murinen Modell mit 2,5 mg / kg angegeben [124].

Der toxisch wirksame Bestandteil des Endotoxins ist das Lipid – A [125]. Das Lipid – A ist chemisch ein Phosphoglykopeptid, welches durch seinen einzigartigen Aufbau nur als Bestandteil von Bakterienzellwänden vorkommt, und nicht isoliert in der Natur vorzufinden ist [116]. Der Aufbau von Lipid – A ist in gramnegativen Bakterien, in denen dieser Anteil von Lipopolysacchariden vorkommt, sehr ähnlich, und unterscheidet sich nur geringfügig im Bereich der anhängenden Lipidketten; die Einteilung und Differenzierung ist anhand der Länge und Anzahl der Lipidketten möglich [116] (Abbildung 10).

Dieses Phosphoglykopeptid bindet an das membranständige Oberflächenmolekül CD14 von immunkompetenten Zellen, in erste Linie Makrophagen [126]. Über eine intrazelluläre Signalkaskade werden in der Folge diverse inflammatorisch aktivierende Substanzen aus den Zellen des Immunsystems freigesetzt, unter anderem Interleukine, Leukotriene, Prostacyclin und Tumornekrose – Faktor – α [121, 127].

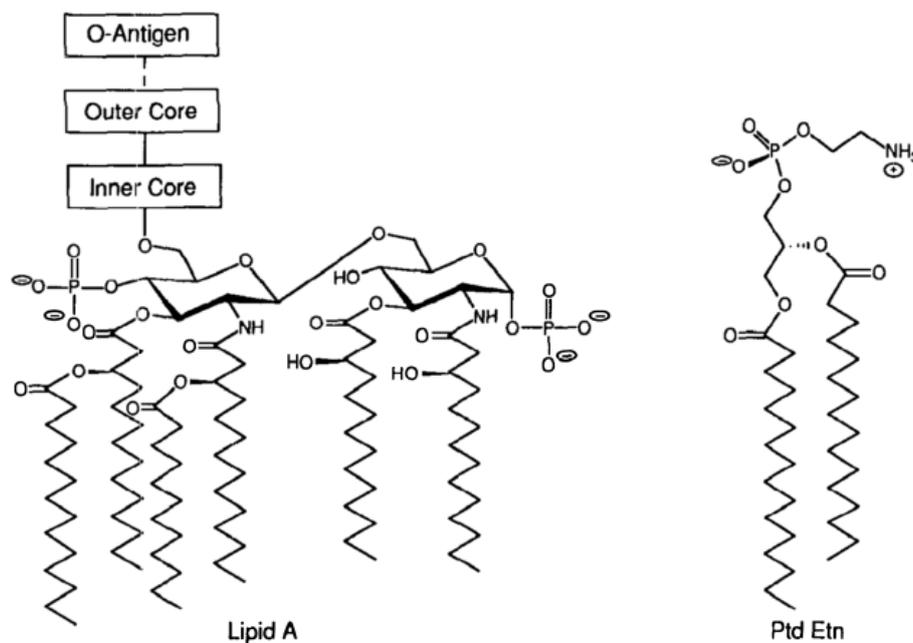


Abbildung 10: Die Ähnlichkeit der Lipid – A Moleküle zweier Bakterien am Beispiel von E. Coli und S. typhimurium [119].

Die Lipopolysaccharide beinhalten jedoch neben dem toxisch aktiven Lipid – A zwei weitere Einheiten, die als Kernregion [128] und O – Antigen bezeichnet werden. Auch diese beiden Regionen enthalten stark verzweigte Gruppen von Polysacchariden, an Hand deren Zusammensetzung und Länge eine Klassifizierung von Serotypen unterschiedlicher Bakterienstämme erfolgt (Abbildung 11).

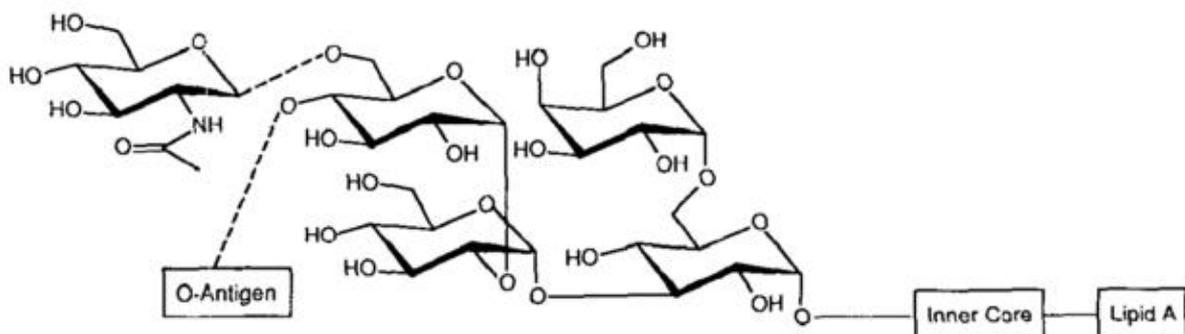


Abbildung 11: die äußere Kernregion von Endotoxin, hier am Beispiel von E. Coli [119]

Durch den strukturellen Aufbau der Endotoxine zeigt das O-Antigen die größte freie Kontraktfläche und ist damit der am stärksten exponierte Anteil [119]. Dieser ist jedoch ausgesprochen heterogen und variabel strukturiert [119]. Das O – Antigen ist aus bis zu 50 Oligosaccharid-Einheiten aufgebaut [119] (Abbildung 12).

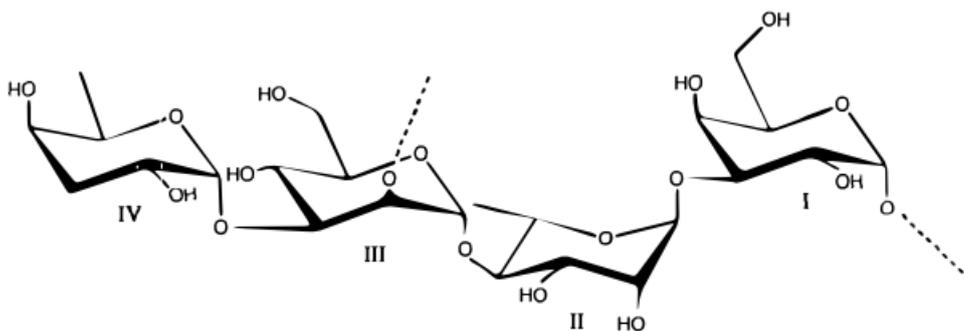


Abbildung 12: das O-Antigen mit seiner repetitiven Struktur, welche die größte Exposition gegenüber der Umwelt erfährt [119]

Auch wenn die biologische Wirkung noch nicht abschließend geklärt werden konnte, erfolgt die Bestimmung der serologischen Spezifität an Hand dieser Untereinheiten. Am Beispiel von H. influenzae konnte bisher nur gezeigt werden, dass das O – Antigen unter für den Mikroorganismus ungünstigen Umweltbedingungen die Virulenz erhöhen kann [129, 130].

Die CORE – Region der Lipopolysaccharide ist wiederum aus einer inneren und äußeren Kernregion aufgebaut, die beide aus Heteropolysacchariden bestehen [131]. Die innere Kernregion ist dabei entscheidend, da sie charakterisierend für gramnegative Bakterien die Zuckereinheit Keto – desoxy – octonat (KDO) beinhaltet, über welche sie mit dem Lipid – A verknüpft ist [116]. Dieser Zucker ist nachweislich für das Überleben des Bakteriums notwendig, denn ohne intakte KDO – Einheit stirbt der Mikroorganismus [132].

2.2.2 Biologische Aktivität und Immun-Reaktion auf Endotoxin

Das Immunsystem besitzt charakteristischerweise die Fähigkeit, körperfremde Moleküle zu identifizieren [133]. Die Angriffspunkte für das Immunsystem an als körperfremd erkannten Molekülstrukturen werden als sogenannte pathogenassoziierte Muster (pathogen – associated molecular patterns, PAMPs) bezeichnet [134]. Dies sind spezifische, in Mikroorganismen vorkommende Moleküle, die durch ihre Struktur die Pathogenität eines Bakteriums zu verantworten haben [134]. Verschiedene Bestandteile von Mikroorganismen können dieser Kategorie zugeordnet werden. Unter anderem sind sowohl bakterielle DNA, Peptidglykane und auch die bereits erwähnten Endotoxine als sog. PAMPs identifiziert worden [133]. Die Zellen des angeborenen Immunsystems tragen auf ihrer Oberfläche Rezeptoren, so genannte pathogen recognition receptors, die an diese unterschiedlichen Pathogen – Muster binden können [133]. Durch ihre Struktur können die Rezeptoren der immunologisch aktiven Zellen teilweise direkt Signaltransduktionswege initiieren [133]. Für die Erkennung von körperfremden Oberflächenstrukturen gibt es einen Rezeptoren – Typ, der besondere Beachtung verdient: die Toll – like Rezeptoren, durch deren Aktivierung eine Signalkaskade zwischen angeborener und erworbener Immunität eingeleitet wird [135]. Indem dieser Rezeptor die Bestandteile von Mikroben erkennt und als PAMP's deklariert, wird in der Zelle der Signalweg von NF – kB aktiviert [136]. Um jedoch diese Signaltransduktion induzieren zu können, ist die zusätzliche Anwesenheit von CD14 und MD – 2 erforderlich [137]. Nur durch die simultane Bindung von Lipopolysacchariden an CD – 14 kann der TLR4 – MD – 2 Komplex das Molekülmuster erkennen und daraus folgend die Aktivierung von TLR4 induzieren [137]. Dieser Prozess führt in der Folge zur Rekrutierung von MyD88, einem intrazellulär gelegenen Adapterprotein, welches mit der Serin – Threonin Protein Kinase Interleukin – 1 Rezeptor – assoziierte – Kinase verbunden ist [138-140]. Als Folge wird durch

Phosphorylierung der Tumor – Nekrose – Faktor – Assoziierte Faktor 6 aktiviert [141]. Dieser Faktor wiederum veranlasst die Gruppe der Mitogen – aktivierten – Protein Kinase Kinase Kinase zur direkten oder indirekten Aktivierung von I κ B Kinase 1 und I κ B Kinase 2 [135]. Diese beiden Kinasen führen zu einem Zerfall von I κ B, aus dem die Freisetzung von NF – κ B resultiert [135]. Dieses Molekül wandert schlussendlich im weiteren Ablauf in den Zellkern und aktiviert dort die Transkription einer Vielzahl an inflammatorischen Genen und löst dadurch die Immunantwort aus [141, 142].

Innerhalb der Gruppe der Toll – like – Rezeptoren wiederum ist der Subtyp TLR4 als spezifischer Rezeptor für LPS identifiziert worden [143]. Dieser Subtyp wird auf natürlichen Killerzellen exprimiert [143]. In Kombination mit der Bindung von Endotoxin an dem CD14 Rezeptor, der auf der Oberfläche von Monozyten und Makrophagen lokalisiert ist, erfolgt die Aktivierung der Zellen [144]. Als Akute – Phase – Protein wird von den Hepatozyten das Lipopolysaccharid – bindende Protein synthetisiert, welches spezifisch an die Lipid – Einheit bindet [131, 145, 146].

Einen Überblick über die Kaskade von der Bindung von LPS an den TLR4 – MD2 Komplex über CD14, MyD88, IRAK, TRAF6, MAP3K, IKK1, IKK2 zur Freisetzung von NF – κ B, die Transkription der inflammatorischen Gene und resultierend die Aktivierung der Immunantwort gibt Abbildung 13.

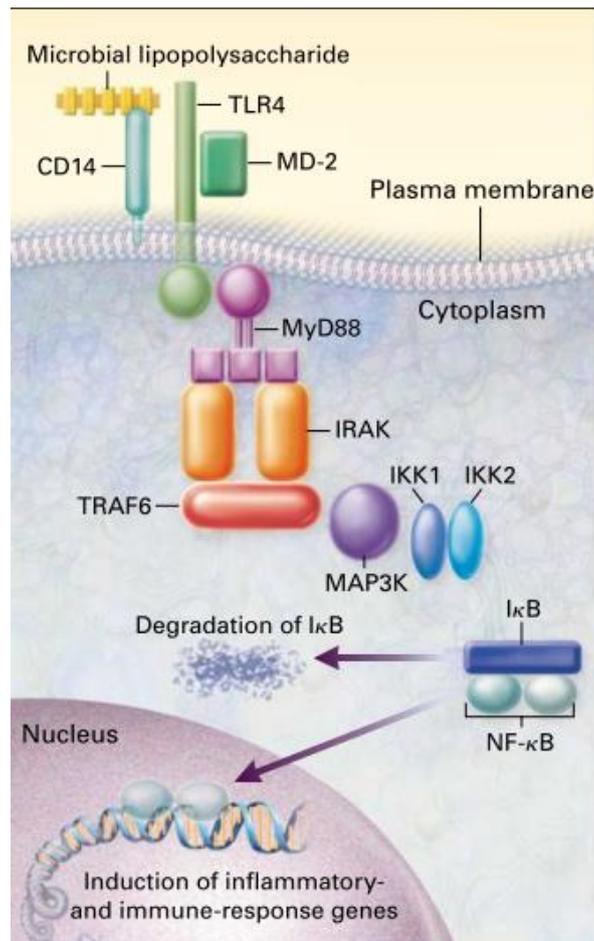


Abbildung 13: Aktivierungskaskade der inflammatorischen Immunantwort ausgelöst durch Mikroben – Bestandteile über TLR 4

Die Bindung von Endotoxin führt über die genannte Kaskade zur Aktivierung von Monozyten, neutrophilen Granulozyten und auch Makrophagen [147]. Die durch diesen Prozess freigesetzten Zytokine induzieren die proinflammatorischen Mediatoren IL – 1, IL – 6, IL – 8 und TNF – α [148-150]. Diese proinflammatorischen Enzyme bedingen wiederum eine Aktivierung von weiteren Leukozyten und es resultiert ein nachweisbarer Anstieg von Zytokinen im Blut (IFN – γ und IL – 2) [131].

Dieser Mechanismus, der negative Effekte in unterschiedlichstem Gewebe im Menschen auslöst, wurde bereits 1972 auf den Knochenstoffwechsel nachgewiesen [151]. Auf Grund der Lockerungen von Implantaten in der Zahnheilkunde wurde bereits früh über die Auswirkungen von Endotoxin auf die Knochenresorption geforscht [151]. So wurde 1974 am histologischen Präparat der Nachweis erbracht, dass durch Endotoxin eine Vermehrung von multinukleären Riesenzellen im Gewebe ausgelöst wird [152].

Der Knochenaufbau ist in Anwesenheit von Endotoxin deutlich eingeschränkt [153]. Es besteht eine direkte Assoziation mit der Kalziumaufnahme in den Knochen, die im Tierversuch an Ratten durch LPS stark reduziert ist [153].

In weiteren Arbeiten wurde in der Folge der genauere Zusammenhang zwischen Endotoxin und dem Knochenabbau hergestellt. Es ist nachgewiesen, dass in Anwesenheit von Endotoxin die Prostaglandin – Produktion verstärkt ist [154, 155]. Darüber hinaus ist der Anteil von Osteoklasten mengenmäßig erhöht [156]. Dieser Zelltyp ist für den Knochenabbau verantwortlich, so dass auch die Knochensubstanz in Anwesenheit von Endotoxin verhältnismäßig reduziert ist [157].

Am Tiermodell konnte im direkten Vergleich der Nachweis erbracht werden, dass am murinen Knochen die Stimulation durch M – CSF einen anderen Mechanismus auslöst als die Stimulation durch Endotoxin [157]. Während bei M – CSF die Differenzierung von Makrophagen zu Osteoprogenitorzellen und im weiteren Verlauf zu Osteoklasten als Auswirkung auf den Knochenabbau festzustellen ist [109], werden über Lipopolysaccharide direkt lokale Entzündungsmediatoren ausgeschüttet [158]. Zwei relevante Vertreter, das IL – 1 und der TNF – α konnten in wissenschaftlichen Arbeiten isoliert werden [158, 159]. Der Mechanismus, über den TNF – α die Osteoklastogenese triggert, hat in der Folge das Forschungsteam um Abu-Amer 1997 entschlüsselt. Über den Rezeptor p55 auf TNF – α werden im Knochenmark vorkommende Makrophagen (BMM) dazu angeregt, das Osteoklastenspezifische Protein c – src zu exprimieren und in Osteoklasten zu differenzieren [160, 161]. Der Effekt von IL – 1 an der proinflammatorischen Antwort auf Endotoxin gelang durch die Verwendung genetisch modifizierter Knock – Out – Mäuse [162]. Deren Oberflächenrezeptoren zeigen eine Deletion für einen spezifischen Rezeptortyp - entweder für IL – 1, TNF – α (p55), TNF – α (p55 & p75) oder TNF – α (p55) oder IL – 1 [162] (Abbildung 14).

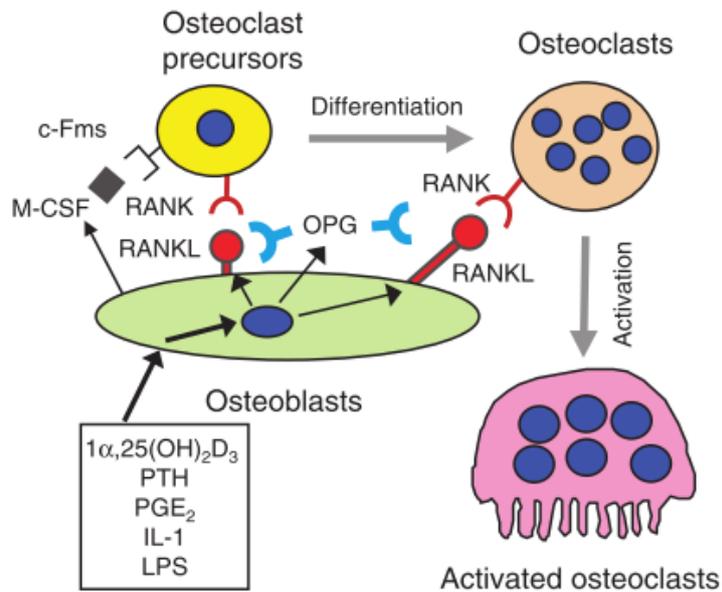


Abbildung 14: Die Differenzierung einer Progenitorzelle zum aktivierten Osteoklasten [163]

Es ist bereits bekannt, dass diese Faktoren nicht allein für die Immunantwort auf Endotoxin verantwortlich sind [164]. Selbst bei kompletter Blockade beider Signalwege ist die Knochenresorption auf die Stimulation durch Endotoxin signifikant erhöht [164]. Im Tiermodell mit Deletion von CD4 und CD8 positiven T – Helferzellen konnte der zusätzliche Einfluss von TNF – β und IL – 3 als auch IL – 1 – β auf die inflammatorische Kaskade nachgewiesen werden [164]. Ferner supprimieren Lipopolysaccharide durch ihre Induktion von Prostaglandin die Synthese von Osteoprotegerin, welches bekanntermaßen einen osteoprotektiven Effekt aufweist [11, 165] (Abbildung 15).

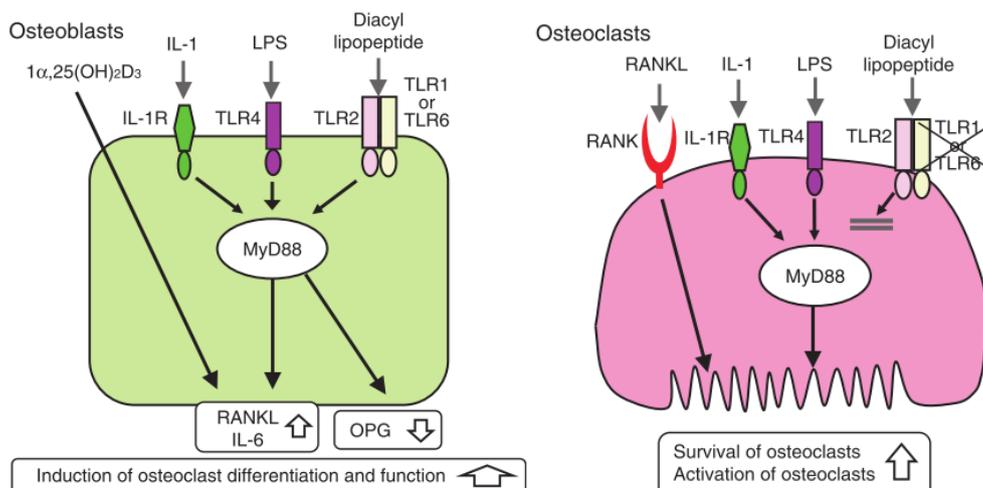


Abbildung 15: Der direkte Einfluss von LPS auf Osteoblasten und Osteoklasten [163]

2.2.3 Lipopolysaccharide in Kombination mit periprothetischem Abrieb

Die inflammatorische Kaskade kann demnach sowohl durch Abrieb als auch durch Lipopolysaccharide initiiert werden [111, 151, 166]. Beide Signalwege führen jeweils einzeln bereits zur periprothetischen Osteolyse, und daraus resultiert die Lockerung der Implantate.

Eine Reduktion der Lockerungsraten durch die Anwendung von Antibiotika – haltigem Zement konnte am norwegischen Endoprothesenregister nachgewiesen werden [167]. Damit drängt sich der Zusammenhang von Osteolysen in Verbindung mit bakteriellen Komponenten auch bei der aseptischen Lockerung auf. Durch adhärentes Endotoxin an Abriebpartikeln waren die biologischen Reaktionen in Zellstudien signifikant erhöht [18, 20]. Die Produktion von Cytokinen ist in Anwesenheit von gebundenem Endotoxin an Titan ebenso gesteigert wie die Differenzierung von Osteoklasten, ohne die Phagozytose – Rate der Partikel zu erhöhen [115, 168]. Diverse Studien haben nicht nur generell die Aktivierung von proinflammatorischen Signalwegen, Metabolismus und Cytokin – Produktion sowie die Osteolyse bewiesen [168-171], sondern auch diverse in der Endoprothetik gebräuchliche Materialien auf ihre spezifischen Parameter und Effekte auf die immunkompetenten Zellen untersucht, darunter Polyethylen [172-176], Titan [20, 168-170], PEEK [72, 177] und Cobalt-Chrom [172, 173].

Bisher noch ungenügend geklärt ist die Frage, welcher Mechanismus dazu führt, dass Endotoxin an Abriebpartikel adhäriert. Diverse Optionen kommen in Betracht. Durch die hohe Hitzebeständigkeit und ubiquitäres Vorkommen ist eine Kontamination mit Lipopolysacchariden bereits in der Herstellung von Biomaterialien zu diskutieren [178]. Zusätzlich kommen Moleküle in Betracht, die im Biofilm von aseptisch gelockerten Prothesen festgestellt worden sind [18]. Da jedoch Biofilme führend von grampositiven Bakterien gebildet werden, Endotoxin jedoch als Bestandteil von gramnegativen Zellen nachgewiesen worden ist [116], ist dieser Mechanismus nicht als Hauptursache anzunehmen. Eine weitere Überlegung geht davon aus, dass im Blut zirkulierendes Endotoxin [179, 180], ausgelöst durch kleine Infekte, Darmflora oder auch Bakteriämien durch zahnmedizinische Eingriffe vermehrt zur Adhäsion von Endotoxin an Abriebpartikel führen [181]. In diversen Studien wurde die Adhäsionsfähigkeit von Endotoxin an Abriebpartikel nachgewiesen, so dass diese These nachvollziehbar

scheint [115, 173, 178, 181-183]. Am Beispiel von Titan konnte durch Schwab im Zellversuch nachgewiesen werden, dass Abriebpartikel sowohl mit als auch ohne Endotoxin einen Effekt auf die Lockerung besitzen [184]. Darüber hinaus scheint es jedoch eindeutig dosis abhängig zu sein, da geringe Konzentrationen von (Endotoxin – freien) Titan – Partikeln nur einen sehr geringen Einfluss auf die inflammatorische Lockerungskaskade auslösen [115]. Eine Vermeidung der frühen aseptischen Lockerung scheint daher mit der Vermeidung von Endotoxin – Adhärenz am periprothetischen Abrieb assoziiert zu sein.

2.3 Studienziel

Sowohl durch Kunstgelenk generierter Abrieb [11, 16] als auch Endotoxin zeigen inflammatorische Eigenschaften [122]. Darüber hinaus ist bekannt, dass Endotoxine an Oberflächen der Abriebpartikel adhären [185]. Bisher nicht bekannt ist jedoch der Aspekt, ob die spezifische Oberflächenstruktur diverser orthopädischer Materialien einen Einfluss auf die Adhärenz von Endotoxin besitzt.

Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass in der Endoprothetik eingesetzte Materialien mit rauer Oberfläche eine höhere Affinität zu Endotoxin besitzen als glatte Oberflächen. Dazu wurde ein in vitro Modell erarbeitet, in dem unterschiedliche in der Endoprothetik eingesetzte Materialien abhängig von ihrer Rauheit auf ihre Adhärenz – Eigenschaft von Endotoxin überprüft werden sollten.

3. Material und Methoden

3.1 Modell zur Messung der Adhärenz von Endotoxin an Biomaterialien

Endotoxin ist als Bestandteil gramnegativer – Bakterien auf allen Oberflächen vorzufinden [186]. Daraus folgt die Problematik, dass ausgesprochen hohe Ansprüche an die Sterilität des Testmodells gestellt werden müssen, um systemische Messfehler sicher vermeiden zu können. 1994 wurde von Gagnon ein Testverfahren vorgestellt, mit dem Endotoxin an PMMA nachgewiesen werden konnte [187]. Dabei wurde adhärentes Endotoxin an PMMA durch Solvatisierung in einer sterilen Lösung über 24 Stunden gelöst und darauffolgend die Messung der Konzentration des LPS in der Lösung untersucht [187]. Jedoch konnte dabei nicht sicher ausgeschlossen werden,

dass Endotoxin weiter an der Oberfläche des getesteten Materials adhärent verblieben ist.

In dem in dieser Studie verwendeten Modell sollte der mögliche Fehler, der bei der Messmethode von Gagnon entstehen kann, ausgeschlossen werden. In einer Testlösung, deren Konzentration an Endotoxin bekannt war, wurden Testmaterialien in zwei unterschiedlichen Rauigkeiten (glatt / glänzend und rau / mattiert) unter luftdichten Bedingungen in ein definiertes Volumen dieser Testlösung eingetaucht. Die untersuchten Materialien wurden vorab von Endotoxin befreit. Nach einer definierten Zeit wurde die Konzentration an Endotoxin im Überstand der Testlösung gemessen. Die Differenz entsprach dem gebundenen Endotoxin an der Oberfläche des jeweiligen Testmaterials.

3.2 Materialien

Neben den bereits erwähnten in der Endoprothetik häufig eingesetzten Materialien Cobalt-Chrom, Titan, Polymethylmethacrylat, Polyethylen, Crosslinked – Polyethylen wurde auch der Werkstoff Polyetheretherketon im Modellversuch untersucht [27, 29, 66-68, 70-72]. Ergänzend, wenn auch nicht als Implantat im Körper verbleibend, wurde rostfreier Edelstahl ebenso auf die Adhärenz von Endotoxin getestet. Aus dieser Stahllegierung werden die Instrumente hergestellt, die perioperativ während des Gelenkersatzes benutzt werden [188], auch wenn sie nicht im Körper als Implantat Verwendung finden.

3.3 Materialtabelle

Die für den Versuchsaufbau verwendeten Produkte sind in Tabelle 1 dargestellt.

Material	Hersteller	Beschreibung
Testwürfel	Firma Aesculap AG Am Aesculap-Platz 78532 Tuttlingen	Je 2 Rauigkeitsstufen pro Material
Endotoxin	Firma Lonza Verviers ® Avenue des Biolleux 6, 4800 Petit-Rechain, Belgium	Herstellung der Endotoxinlösung

Rüttelplatte Certomat © MO-II	Sartorius GmbH August-Spindler-Str. 11 37079 Goettingen	Durchmischung der Testlösung vor jeder Versuchsreihe
Borosilikatglas Becherglas 5ml	neoLab Migge GmbH Rischerstr. 7-9 69123 Heidelberg	Behälter für Testlösung und Testlösung
Verschlusskappe	Labor für Biomechanik Universität Großhadern LMU München Marchioninstr. 15 81377 München	Verschluss der Testbehälter, um sekundäre Verunreinigung während des Testzyklus zu verhindern
EtoxaClean © 1%	Firma Sigma-Aldrich Eschenstr. 5 82024 Taufkirchen	Lösung zur Herstellung endotoxinfreier Untersuchungsmaterialien
Wasser endotoxinfrei	Firma Lonza Verviers ® Avenue des Biolleux 6, 4800 Petit-Rechain Belgium	Herstellung der Testlösung und Reinigung der Kontaktmaterialien der Testlösung nach Behandlung mit EtoxaClean©
10fach Rührplatte	IKAMAG ® , P.O. Box 2124, Chelmsford, Essex, CM1 3UP, England.	Bei 37° konstante Bewegung der Testlösung
Rührfische	Brand GmbH & CoKG Otto-Schott-Str. 25 97877 Wertheim	Konstante Bewegung der Testlösung über den Testzyklus
Ansatz Pipette AccuJet	Brand GmbH & CoKG Otto-Schott-Str. 25 97877 Wertheim	Abmessen von 5ml der Testlösung
Pipette 10ml Corning©Costar© Stripette	Firma Sigma-Aldrich Eschenstr. 5 82024 Taufkirchen	Abmessen von 5ml der Testlösung
Klebstoff Turbocoll 2000 TurboMix	Boldt und Co Tente 132, 42929 Wermelskirchen	2 Komponentenklebstoff zur Befestigung der Testwürfel an der Verschlusskappe

Anatomische Pinzette 20cm	Allgeier Instrumente Teuchelgrube 6-10 78665 Frittlingen	Zur Vermeidung von Kontamination durch Testperson alleinige Berührung der Testutensilien mit Pinzette
Steriltücher Secu-Drape	Sengewald Klinikprodukte Adlerstr. 2 83101 Rohrdorf	Unterlage in der Sterilbank zur Vermeidung von Kontamination
Ethanol 70%	Kremer GmbH Tütersburg 37 42277 Wuppertal	Zur Wischdesinfektion der Sterilbank vor jeder Testreihe

Tabelle 1: eingesetzte Materialien

Testwürfel: Die Firma Aesculap® (Am Aesculap – Platz, 78532 Tuttlingen) stellte die Testwürfel der geforderten Materialien in jeweils 2 Rauigkeitsstufen zur Verfügung. Diese waren in Sonderanfertigung als Einzelstücke gefertigt worden. Die Kantenlänge der Würfel betrug 10 mm. Pro Material wurden n = 4 Würfel getestet (Abbildung 16).

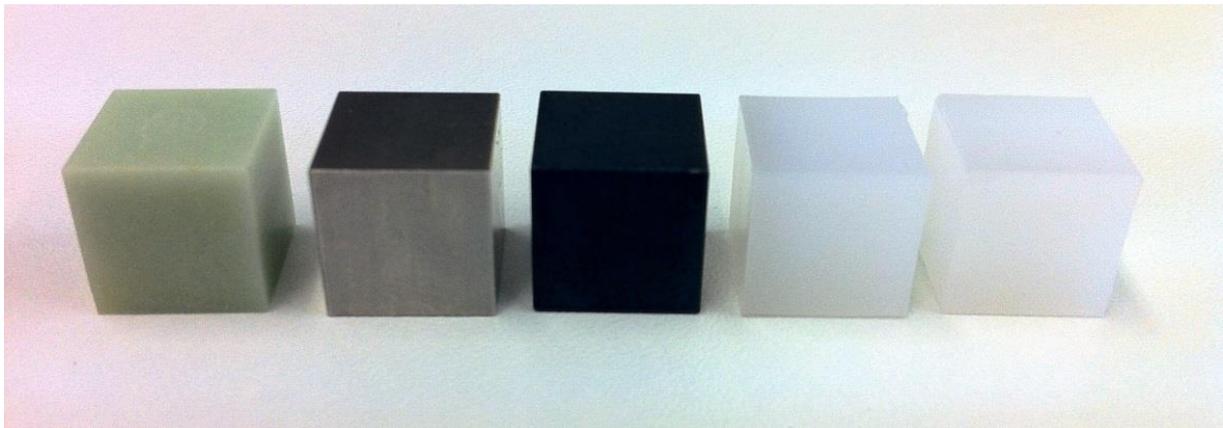


Abbildung 16: Hier sind von links nach rechts folgende Materialien gezeigt: PMMA, Titan, PEEK, Polyethylen, Crosslinked - Polyethylen jeweils in der matteden Ausfertigung.

Die Rauheit der untersuchten Würfel wurde durch den Tastertyp TKU 300, Messbereich 400 µm, Teststrecke 4,8 mm, Messgeschwindigkeit 0,50 mm / sec., Messfilter ISO11562 (M1) der Firma Jenoptik (JENOPTIK AG, Carl – Zeiß – Straße 1, 07743 Jena) bestimmt und bereits vorab von dem Hersteller der Testwürfel, Aesculap®, geprüft.

Rauheit definiert sich als die Abweichung der Oberfläche von dem idealen Profil nach DIN 4760:1982. Zur Vergleichbarkeit der Oberflächenrauheit wurden die sog. Mittenrauwerte verwandt, da einzelne Werkstoffe gehäuft unterschiedliche

Oberflächenstruktur besitzen. Dazu wurde der Mittelwert der Abweichungen vom idealen Profil angegeben. Die Abweichung wird per Definition in mm pro mm Messstrecke angegeben, so dass die Rauheit keine Einheit besitzt [189]. In nachfolgender Tabelle werden die jeweiligen Materialien und ihre definierten Rauigkeiten aufgeführt (Tabelle 2).

Material	Rau	Glatt
PMMA	0,68	0,23
PEEK	0,97	0,57
Polyethylen	1,30	0,66
Crosslinked – Polyethylen	1,48	0,66
Instrumenten – Stahl	0,67	0,44
Implantat – Stahl (CoCr)	0,38	0,22
Titan	0,66	0,40

Tabelle 2: Rauigkeiten der untersuchten Materialien

Endotoxin-Lösung: Zur Herstellung der Endotoxin Lösung wurden 12,5 Mio EU an Endotoxin in Pulverform von der Firma Lonza Verviers® (Avenue des Billoleux 6, 4800 Petit-Rechain, Belgien) bezogen. Das Pulver wurde in 500 ml endotoxinfreien Wasser gelöst, und auf der Rüttelplatte für 1 Stunde sorgfältig vermischt. Die Herstellung der Lösung wurde unter der Sterilbank durchgeführt, um einerseits eine Kontamination aus der Umgebung, als auch andererseits eine Schädigung des Untersuchers zu vermeiden. Von der Lösung mit errechneter Konzentration von 25.000 EU / ml wurde eine Verdünnungsreihe mit der Zielkonzentration von 0,5 EU / ml angelegt. Diese Konzentration von Endotoxin wurde gewählt, da der chromatografische Test der Firma Lonza® für den Nachweis von Endotoxin, mit dem der Versuch durchgeführt wurde, die höchste Genauigkeit zwischen 0,05 EU / ml und 5 EU / ml Endotoxin besitzt. Diese Lösung wurde ebenfalls für eine Stunde auf der Rüttelplatte vermischt. Aus Sterilisationsgründen wurde täglich eine Messreihe durchgeführt, da unter der Sterilbank nicht mehrere Testreihen parallel durchgeführt werden konnten. Im Anschluss an die Versuchsreihe wurde die Endotoxin – Lösung über Nacht lichtgeschützt bei 4 ° C gelagert. Vor erneuter Testung wurde die Lösung erneut über

1 Stunde auf der Rüttelplatte vermischt, um etwaige Sedimentationen erneut in Lösung zu bringen.

3.4 Versuchsaufbau

Zur Vorbereitung wurde die Arbeitsfläche unter der Sterilbank mit 70 % Ethanol desinfiziert. Es wurden sterile Abdecktücher (SecuDrape 70 x 45 cm, Sengewald Klinikprodukte, Adlerstr. 2, 83101 Rohrdorf) untergelegt. Der 10 – fach Magnetrührer wurde ebenfalls mit Ethanol desinfiziert und auf das Abdecktuch gestellt (Abbildung 17). Der Rührer wurde eingeschaltet und auf Stufe 4 (= 37 ° C) gestellt. Die Temperatureinstellung des Rührers wurde vor den Messungen festgelegt, und im Anschluss unverändert belassen. Dazu wurde mit einem Tauchthermometer eine 5ml wässrige Lösung auf der Platte mit einem Rührfisch in Bewegung gesetzt, und die Temperatur so lange erhöht, bis die 37 °C erreicht waren. Insgesamt für eine Stunde war die Temperatur konstant zu halten, die Testzeit der Proben wurde ebenfalls auf eine Stunde angesetzt. Diese Zeit wurde gewählt, um sowohl eine vollständige Adhärenz an die Testmaterialien zu gewährleisten, und möglichst die Zeit für eine sekundäre Kontamination gering zu halten.



Abbildung 17: 10 – fach Rührplatte beheizbar IKAMAG @ 10 RT Power

Die Glasgefäße, die über Nacht im Sterilisator vorbereitet wurden, wurden mit der sterilen Pinzette entnommen und auf den jeweiligen Rührplatz gestellt. Die endotoxinhaltige Lösung wurde aus dem Kühlschrank entnommen, 60 min auf der Rüttelplatte unter Strudelbildung gemischt, und danach für die Testreihe verwandt. Nach jeder Testreihe wurde die Lösung lichtgeschützt und luftdicht verschlossen im Kühlschrank bei 4°C gelagert. Die Firma Lonza ® gab für 14 Tage eine Empfehlung zur Benutzung einer angesetzten Endotoxinlösung an, da die Endotoxin –

Konzentration bei längerer Verwendung nicht garantiert konstant zu halten war. Es wurden während der gesamten Versuchsreihe insgesamt 3 Testlösungen angesetzt. Dabei wurde der maximale Platz unter der Sterilbank ausgenutzt, so dass keine weiteren Versuchsreihen parallel durchführbar waren.

Zum Schutz vor Verunreinigung während der Messungen waren Plastik – Verschluss – Kappen CNC – gefräst worden, die den Glaskolben dicht verschließen (Abbildung 18).

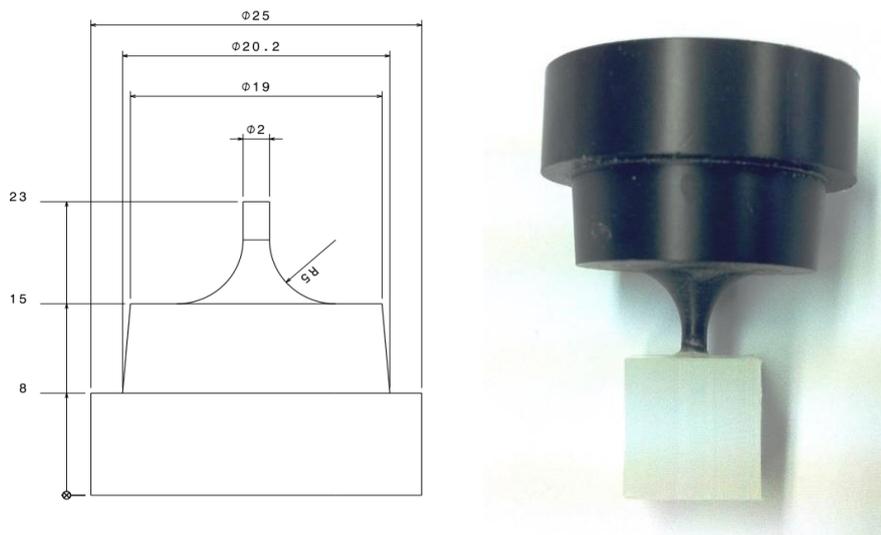


Abbildung 18: Planungszeichnung für die Verschlusskappen und fertiggestellte Verschlusskappe mit angeklebtem Testwürfel

Die gefrästen Verschlusskappen wurden mit Klebstoff Turbocoll 2000 TurboMix MegaBond (Boldt und Co, Tente 132, 42929 Wermelskirchen) mit den zu untersuchenden Testwürfeln verbunden. Durch das Ankleben der Würfel an die Deckelkonstruktion konnte annähernd die gesamte Würfeloberfläche für das Endotoxin zugänglich gemacht werden (Oberfläche des Testwürfels bei 10 mm Kantenlänge entspricht 600 mm²), die Klebefläche entsprach 3,142 mm², da der Würfeldeckel eine rund gefräste Spitze mit einem Durchmesser von 2 mm besaß. Damit standen 99,5 % der Würfeloberfläche als Kontaktfläche zum Endotoxin zur Verfügung.

Die weiteren Materialien, die in diesem Versuchsaufbau genannt wurden, und die zu untersuchenden Materialien mit den angeklebten Deckeln wurden für 24 Stunden in 1% Etoxa – Clean © Lösung eingelegt. Nach Entnahme aus der Lösung wurden die Materialien vor der Durchführung der Versuche mit endotoxinfreiem Wasser gewaschen. Dadurch konnte die Endotoxinfreiheit der Materialien gesichert werden.

3.5 Versuchsablauf

Mit einer Pipette wurden jeweils 5ml der Testlösung in die 10 Glas Messbecher gefüllt. Aus der Etoxa – Clean © – Lösung wurde jeweils ein Rührfisch per Pinzette entnommen, mit endotoxinfreiem Wasser per Pipette (20 ml) gewaschen, und durch leichte Schüttelbewegung von überschüssigem Wasser befreit, und im Anschluss jeweils in einen Messbecher eingesetzt. Der Magnetrührer wurde auf Stufe 4 gestellt. Die ebenfalls in Etoxa – Clean © eingelegten Deckel – Würfel – Komponenten der aktuellen Testreihe sind im Anschluss ebenfalls mit der Pinzette entnommen worden und in identischer Weise mit 20ml endotoxinfreiem Wasser gewaschen worden, und ebenfalls, soweit mechanisch möglich, von überschüssigem Wasser befreit.

In einer Testreihe wurden 2 Materialien mit jeweils 4 identischen Proben untersucht. Die fünfte Probe wurde jeweils ohne Messwürfel als Leerprobe untersucht, um etwaige Abweichungen von der errechneten Konzentration als Korrektiv zum Vergleich angeben zu können.

Der Versuch lief eine Stunde. Danach wurden die Deckel mit den Testwürfeln entfernt, und für jede Probe mit einer endotoxinfreien Pipette jeweils 4 ml der Lösung in endotoxinfreie Testphiolen abgefüllt. Nach Verschluss der Phiolen wurden diese an das Labor der Firma Lonza ® nach Belgien zur Testung eingeschickt.

3.6 LAL-Assay

Zum quantitativen Nachweis von Endotoxin ist der Limulus Amebocyte Lysate Assay etabliert [190]. Im Blut von HorseShoe-Krebsen konnte 1956 von Fred Bang festgestellt werden, dass dieses durch den Kontakt mit Endotoxin koaguliert. Es wurden sogenannte Amoebozyten nachgewiesen, deren Substrat durch die Bindung mit Endotoxin eine Gerinnungskaskade aktivieren [191]. Die Testung der LPS-Konzentration wurde im Labor der Firma Lonza Verviers ® durchgeführt.

Die Messung basiert auf folgendem Prinzip: Faktor C, die erste Komponente in der Kaskade, ist eine Protease, die durch die Bindung an Endotoxin aktiviert wird. Dadurch wird Faktor B aktiviert, welcher das Pro – Koagulase – Enzym in das Koagulase-Enzym umwandelt. Der Test verwendet ein chromografisches Peptid – Substrat, welches durch das Koagulase – Enzym gespalten wird, und damit in ein gelbes Produkt zerfällt. Die LPS – Konzentration wird damit über die Intensität des Farbumschlages

nachgewiesen. Der benutzte QCL – 1000TM Assay ist ein schneller und quantitativer Test, welcher gram – negatives Endotoxin nachweist. Der Test hat eine Messgenauigkeit (Sensitivität) von 0.1 EU / ml – 1.0 EU / ml (Abbildung 19).

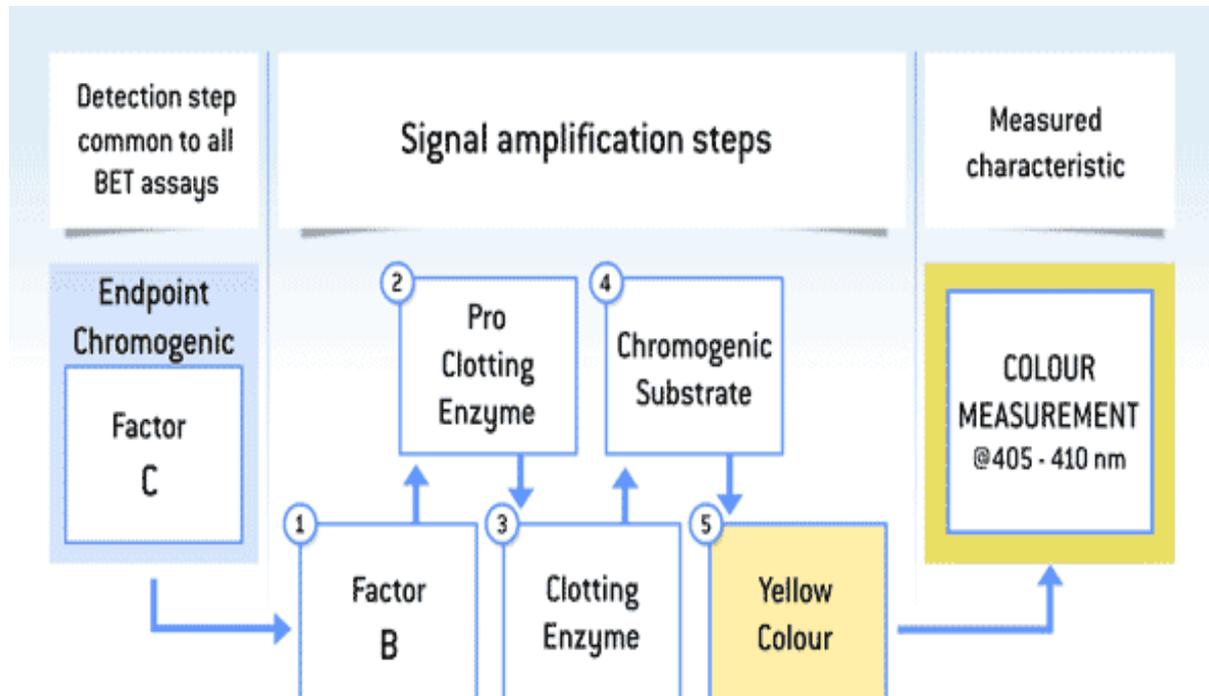


Abbildung 19: Ablauf des LAL-Assay als Übersicht der Firma Lonza [192]

3.7 Statistische Auswertung

Die statische Auswertung beruhte auf dem Vergleich der Materialien in ihrer jeweils rauhen und glatten Ausführung. Das Signifikanz Niveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt. Für jedes Material wurde eine ANOVA-Analyse durchgeführt.

3.8 Vorversuch Polymethylmethacrylat

Um das Modell zu prüfen, wurde zunächst PMMA in beiden Rauheitsstufen getestet. Der Stoff wurde gewählt, da bei PMMA die Differenz der beiden Rauheiten im Verhältnis sehr hoch war (1 : 3).

3.8.1 Ergebnis Polymethylmethacrylat

Bei PMMA wurden in beiden Testreihen numerische Ergebnisse in allen 4 Proben erreicht, wobei sich eine deutlich höhere Konzentration an Endotoxin im Überstand der glatten Messreihe als an der rauhen Messreihe nachweisen ließ. Der Kontroll – Messwert lag gering unter dem Messwert der glatten Testreihe (Tabelle 3).

Material	Rauheit	Kontrollwert	Messwert
PMMA	0,68	1,03	0,74
			0,84
			0,64
			0,51
PMMA	0,23	1,03	1,06
			1,15
			1,15
			1,19

Tabelle 3: Messwerte PMMA

3.8.2 Auswertung Polymethylmethacrylat

Bei PMMA wurden für die Auswertung vier Messwerte in beiden Gruppen durch den Messwert der Kontrolllösung (1,03 EU / ml) geteilt (normiert), um die prozentuale Bindung des Endotoxins an die Oberfläche zu beschreiben (Tabelle 4).

PMMA	Glatt	Rau
Messwert 1 normiert	1,029	0,721
Messwert 2 normiert	1,116	0,815
Messwert 3 normiert	1,116	0,619
Messwert 4 normiert	1,155	0,493

Tabelle 4: normierte Messwerte PMMA

Daraus ergab sich ein Wert für die glatte Messgruppe von 1,104 (Mw) \pm 0,03 (StD). In der rauhen Messgruppe von PMMA lag der Wert bei 0,662 (Mw) \pm 0,019 (Std). Um die Adhärenz von Endotoxin an PMMA zu erhalten, wurden diese Werte im Anschluss von dem Kontrollwert subtrahiert.

Glattes PMMA in der Rauheit von 0,22 zeigte in dieser Versuchsreihe keine Adhärenz an Endotoxin, während bei rauem PMMA mit einem Rauigkeitswert von 0,38 im Mittelwert gut 30 % des eingesetzten Endotoxins gebunden wurde (Abbildung 20). Der p-Wert lag bei $p > 0,05$.

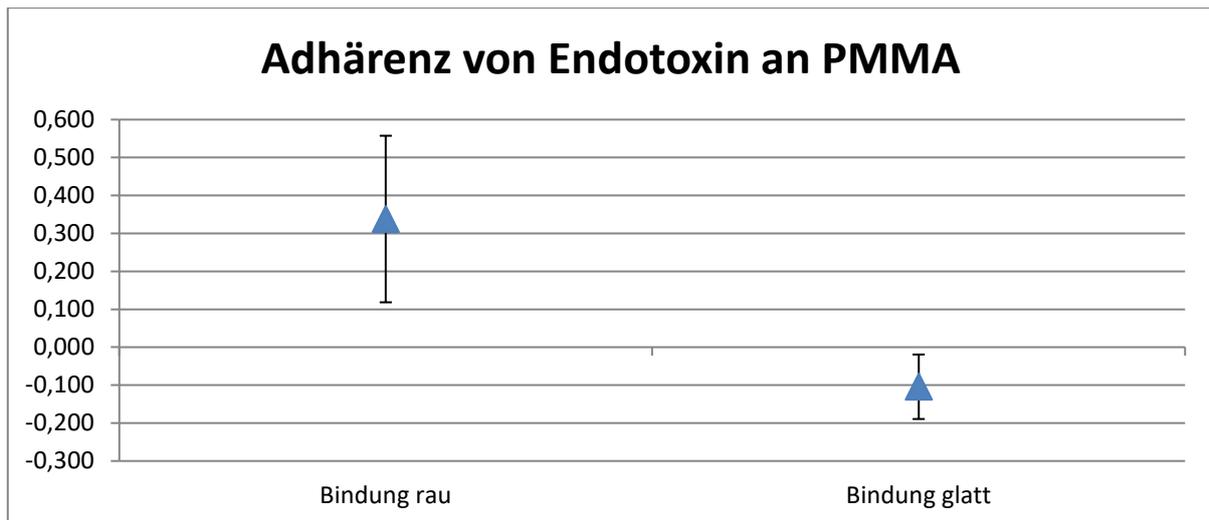


Abbildung 20: Adhärenz von Endotoxin an PMMA

3.8.3 Schlussfolgerungen aus dem Vorversuch

Die Ergebnisse zeigten eine deutliche Tendenz, jedoch nicht in statistisch signifikantem Niveau ($p > 0,05$). Um eine höhere Aussagekraft zu generieren, wurden in den weiteren Testungen mehrere Verdünnungsreihen jeder Probe untersucht, und zwar im Verhältnis 1 / 10, 1 / 100 und 1 / 1000. Im Anschluss wurden die Ergebnisse zurückgerechnet (Test – Typ 95 – 103 der Firma Lonza, Verviers ®). Auch die Kontrolllösung wurde bei den folgenden Versuchsreihen in drei Verdünnungsstufen getestet. Aus den getesteten Kontrolllösungen wurde im Anschluss der Mittelwert gebildet, und dieser dem Mittelwert der Testlösungen gegenübergestellt. Die Differenz zwischen der Endotoxinkonzentration aus Mittelwert der Kontrolllösungen und der Mittelwerte der Testreihe ergab den Anteil des Endotoxins, das an der Oberfläche gebunden wurde.

Darüber hinaus war eine minimal geringere Konzentration in der Kontroll – Probe gemessen worden als in der glatten Messreihe. Dies ist jedoch im Bereich der Messgenauigkeit des Testes begründet, so dass der Mehrnachweis als nicht signifikant eingeordnet wurde.

In identischer Weise wurde daraufhin erneut eine Testlösung angesetzt, und mit den Versuchsreihen fortgesetzt. Der Versuchsablauf wurde daraufhin für alle weiteren Materialien in identischer Weise durchgeführt.

4. Ergebnisse

Bei zu niedriger Konzentration an Endotoxin in der Messprobe konnte kein eindeutiger Wert angegeben werden. Damit wurde das Ergebnis nur mit < 5.0 EU / ml angegeben. Dies war mehrfach in der Verdünnungsreihe 1 / 1000 der Fall. Entsprechend konnte dieser Testwert dann auch nicht in der statistischen Auswertung berücksichtigt werden.

Die reinen, im Labor errechneten Endotoxin – Konzentrationen ergaben ohne den Zusammenhang mit der zugehörigen Kontrolllösung kein einheitliches Bild, und konnten von der rein numerischen Konzentration nicht direkt miteinander verglichen werden. Der Ansatz mehrerer Testlösungen und die damit verbundene Diskrepanz der Konzentrationen ist in diesem Zusammenhang zu erwähnen.

Insofern wurde, um die Möglichkeit einer Vergleichbarkeit zu erreichen, eine Normierung der Werte im Verhältnis zu ihren Kontrollwerten durchgeführt, und aus den daraus resultierenden Messwerten der Mittelwert gebildet.

Das ließ zwar keinen numerischen Bindungswert einzelner Rauigkeiten und der Materialien zu, bot jedoch im Umkehrschluss eine verlässliche Aussage zu der Abhängigkeit von Rauigkeit und der korrespondierenden Endotoxinadhärenz.

Diese Werte tragen keine Einheit, da die Konzentrationen rechnerisch eliminiert wurden und damit im Endergebnis nur prozentuale Bindungen angegeben werden konnten.

Die Kontrolle war damit als Vergleichsgröße stets mit dem Wert 1 anzugeben, da die Normierung durch die Kontrolle durch sich selbst dividiert den Wert 1 ergeben musste (entsprechend 100 %).

4.1 Messwerte

Aus den Ergebnissen der eingesandten Messproben wurde eine Tabelle erstellt. Anhand dieser Messwerte wurde die statistische Analyse durchgeführt (Tabelle 5).

Material	Rauheit	Kontrollwert EU / ml	Verdünnung	Messwert EU / ml
PEEK	0,97	1,37	1 / 10	2,41
			1 / 10	2,67
			1 / 10	2,09
			1 / 10	2,50
			1 / 100	2,84
			1 / 100	3,06
			1 / 100	1,57
			1 / 100	2,12
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
PEEK	0,57	1,35	1 / 10	4,10
			1 / 10	3,61
			1 / 10	3,46
			1 / 10	2,93
			1 / 100	5,55
			1 / 100	4,29
			1 / 100	2,66
			1 / 100	3,05
			1 / 1000	5,03
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
Polyethylen	1,41	8,09	1 / 10	5,73
			1 / 10	5,62

			1 / 10	5,18
			1 / 10	4,91
			1 / 100	4,16
			1 / 100	4,35
			1 / 100	4,99
			1 / 100	4,72
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
Polyethylen	0,95	3,71	1 / 10	3,76
			1 / 10	3,61
			1 / 10	5,26
			1 / 10	4,17
			1 / 100	3,51
			1 / 100	4,52
			1 / 100	3,34
			1 / 100	3,19
			1 / 1000	2,74
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
Crosslinked – Polyethylen	2,19	4,83	1 / 10	6,09
			1 / 10	5,72
			1 / 10	6,74
			1 / 10	4,66
			1 / 100	4,86

			1 / 100	6,09
			1 / 100	6,04
			1 / 100	5,61
			1 / 1000	5,96
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
Crosslinked – Polyethylen	0,66	2,55	1 / 10	6,04
			1 / 10	4,19
			1 / 10	2,85
			1 / 10	2,55
			1 / 100	1,85
			1 / 100	1,72
			1 / 100	5,28
			1 / 100	5,00
			1 / 1000	5,13
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
Instrumenten – Stahl	0,67	3,69	1 / 10	0,17
			1 / 10	0,45
			1 / 10	0,92
			1 / 10	0,10
			1 / 100	0,26
			1 / 100	n.m.
			1 / 100	n.m.
			1 / 100	n.m.

			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
Instrumenten – Stahl	0,44	3,88	1 / 10	1,39
			1 / 10	2,02
			1 / 10	0,42
			1 / 10	0,86
			1 / 100	0,82
			1 / 100	1,41
			1 / 100	0,66
			1 / 100	1,38
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
Implantat – Stahl	0,38	2,89	1 / 10	0,99
			1 / 10	0,96
			1 / 10	1,16
			1 / 10	1,43
			1 / 100	1,84
			1 / 100	2,42
			1 / 100	1,07
			1 / 100	1,51
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.

			1 / 1000	n.m.
Implantat – Stahl	0,22	2,89	1 / 10	2,16
			1 / 10	2,02
			1 / 10	1,94
			1 / 10	2,38
			1 / 100	1,79
			1 / 100	2,14
			1 / 100	2,26
			1 / 100	2,27
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.
Titan	0,78	7,35	1 / 10	5,43
			1 / 10	6,16
			1 / 10	8,93
			1 / 10	8,05
			1 / 100	6,24
			1 / 100	6,55
			1 / 100	6,89
			1 / 100	7,15
			1 / 1000	6,30
			1 / 1000	6,41
			1 / 1000	6,49
			1 / 1000	n.m.
Titan	0,44	4,02	1 / 10	11,50
			1 / 10	9,76

			1 / 10	5,31
			1 / 10	11,60
			1 / 100	9,68
			1 / 100	6,29
			1 / 100	4,76
			1 / 100	5,47
			1 / 1000	4,19
			1 / 1000	4,52
			1 / 1000	n.m.
			1 / 1000	n.m.

Tabelle 5: Ergebnisse Rohdaten

4.1.1 Polyetheretherketon (PEEK)

Bei PEEK wurden für die statistische Auswertung in der glatten Gruppe insgesamt 9 Messwerte und in der rauen Gruppe 8 Messwerte durch die Konzentration der dazugehörigen Kontrollmessungen (rau: 1,37 EU / ml, glatt: 1,35 EU / ml) normiert und in der statistischen Auswertung berücksichtigt (Tabelle 6).

PEEK	Glatt	Rau
Messwert 1 normiert	3,037	1,766
Messwert 2 normiert	2,674	1,956
Messwert 3 normiert	2,563	1,531
Messwert 4 normiert	2,170	1,831
Messwert 5 normiert	4,111	2,081
Messwert 6 normiert	3,178	2,242
Messwert 7 normiert	1,970	1,150
Messwert 8 normiert	2,259	1,553
Messwert 9 normiert	3,726	n.m.

Tabelle 6: normierte Messwerte PEEK

Daraus ergab sich ein Wert für die glatte Messgruppe von 2,854 (Mw) \pm 0,5225 (StD). In der rauen Messgruppe von PEEK lag der Wert bei 1,764 (Mw) \pm 0,121 (StD).

Um die Adhärenz von Endotoxin an PEEK zu erhalten, wurden diese Werte im Anschluss von dem Kontrollwert subtrahiert.

Glattes PEEK in der Rauheit von 0,57 zeigte in dieser Versuchsreihe ein stärker negatives Bindungsverhalten, in dem ca. 3 – mal mehr Endotoxin nachgewiesen werden konnte als primär eingesetzt wurde. In der Gruppe des rauhen PEEK mit einem Rauigkeitswert von 0,97 konnte 1,8 – mal mehr Endotoxin im Überstand gemessen werden als in der Kontrollprobe vorhanden war (Abbildung 21). Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,05$).

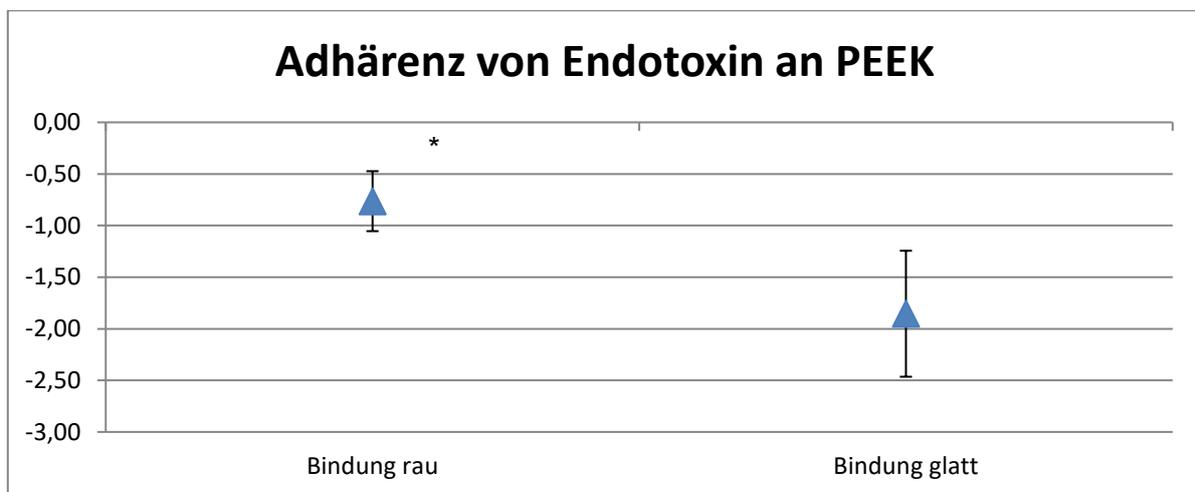


Abbildung 21: Adhärenz von Endotoxin an Polyetheretherketon (*= $p < 0,05$)

4.1.2 Polyethylen

Bei Polyethylen wurden für die statistische Auswertung in der glatten Gruppe insgesamt 9 Messwerte und in der rauhen Gruppe 8 Messwerte durch die Konzentration der dazugehörigen Kontrollmessungen (rau: 8,09 EU / ml, glatt: 3,71 EU / ml) normiert und in der statistischen Auswertung berücksichtigt (Tabelle 7).

Polyethylen	Glatt	Rau
Messwert 1 normiert	1,015	0,709
Messwert 2 normiert	0,974	0,695
Messwert 3 normiert	1,420	0,641
Messwert 4 normiert	1,126	0,607
Messwert 5 normiert	0,947	0,514
Messwert 6 normiert	1,220	0,538
Messwert 7 normiert	0,901	0,617

Messwert 8 normiert	0,860	0,584
Messwert 9 normiert	0,740	n.m.

Tabelle 7: normierte Messwerte Polyethylen

Daraus ergab sich für die glatte Messgruppe ein Wert von 1,023 (Mw) ± 0,042 (StD). In der rauhen Messgruppe von Polyethylen lag der Wert bei 0,631 (Mw) ± 0,005 (StD).

Um die Adhärenz von Endotoxin an Polyethylen zu erhalten, wurden diese Werte im Anschluss von dem Kontrollwert subtrahiert.

Glattes Polyethylen in der Rauheit von 0,95 zeigte in dieser Versuchsreihe kein Bindungsverhalten von Endotoxin an die Oberfläche, während bei rauem Polyethylen mit einer Rauheit von 1,41 ca. 40% des eingesetzten Endotoxins adhärerten (Abbildung 22). Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,05$).

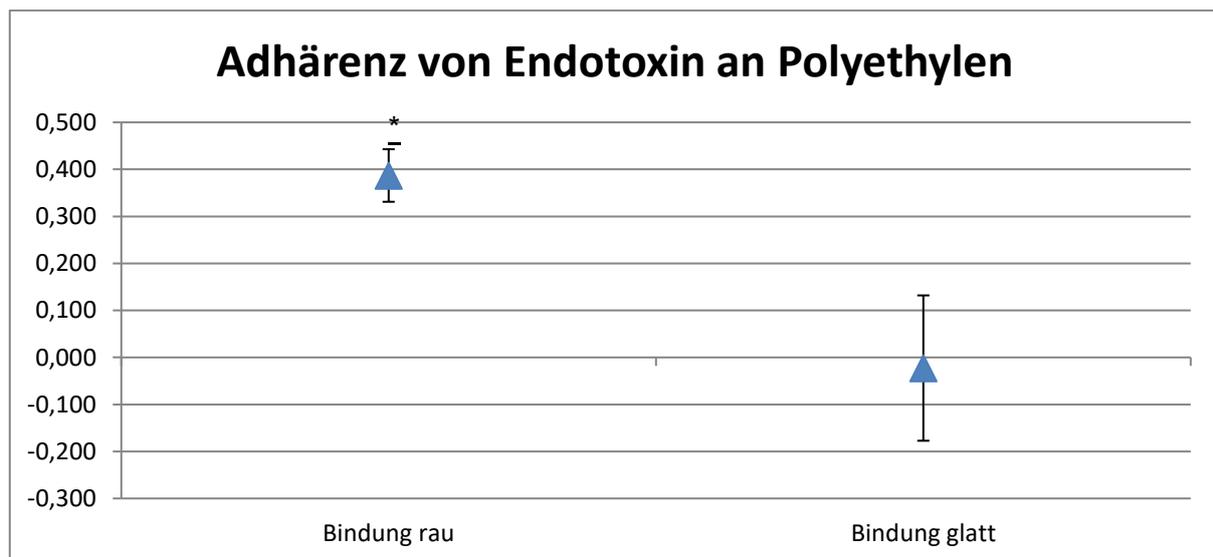


Abbildung 22: Adhärenz von Endotoxin an Polyethylen (*= $p < 0,05$)

4.1.3 Crosslinked – Polyethylen

Bei Crosslinked – Polyethylen wurden für die statistische Auswertung in der glatten und in der rauhen Gruppe 9 Messwerte durch die Konzentration der dazugehörigen Kontrollmessungen (rau: 4,83 EU / ml, glatt: 2,55 EU / ml) normiert und in der statistischen Auswertung berücksichtigt (Tabelle 8).

Crosslinked – Polyethylen	Glatt	Rau
Messwert 1 normiert	2,373	1,261

Messwert 2 normiert	1,646	1,184
Messwert 3 normiert	1,120	1,395
Messwert 4 normiert	1,002	0,965
Messwert 5 normiert	0,727	1,006
Messwert 6 normiert	0,676	1,261
Messwert 7 normiert	2,075	1,251
Messwert 8 normiert	1,965	1,161
Messwert 9 normiert	2,016	1,234

Tabelle 8: normierte Messwerte Crosslinked – Polyethylen

Daraus ergab sich für die glatte Messgruppe der Wert von 1,51 (Mw) \pm 0,408 (StD). In der rauhen Messgruppe von Crosslinked – Polyethylen lag der Wert bei 1,19 (Mw) \pm 0,018 (StD).

Um die Adhärenz von Endotoxin an Crosslinked – Polyethylen zu erhalten, wurden diese Werte im Anschluss von dem Kontrollwert subtrahiert.

Glattes Crosslinked – Polyethylen in der Rauheit von 0,66 zeigte in dieser Versuchsreihe ebenso wie die raue Gruppe mit einer Rauheit von 2,19 eine höhere Konzentration an Endotoxin als die Kontrollgruppe. Dabei konnte in der rauhen Messreihe ca. 120% des eingesetzten Endotoxins nachgewiesen werden, während bei der glatten Messreihe ungefähr 150% des Endotoxins im Überstand nachgewiesen werden konnte (Abbildung 23). Das Ergebnis war nicht signifikant ($p > 0,05$).

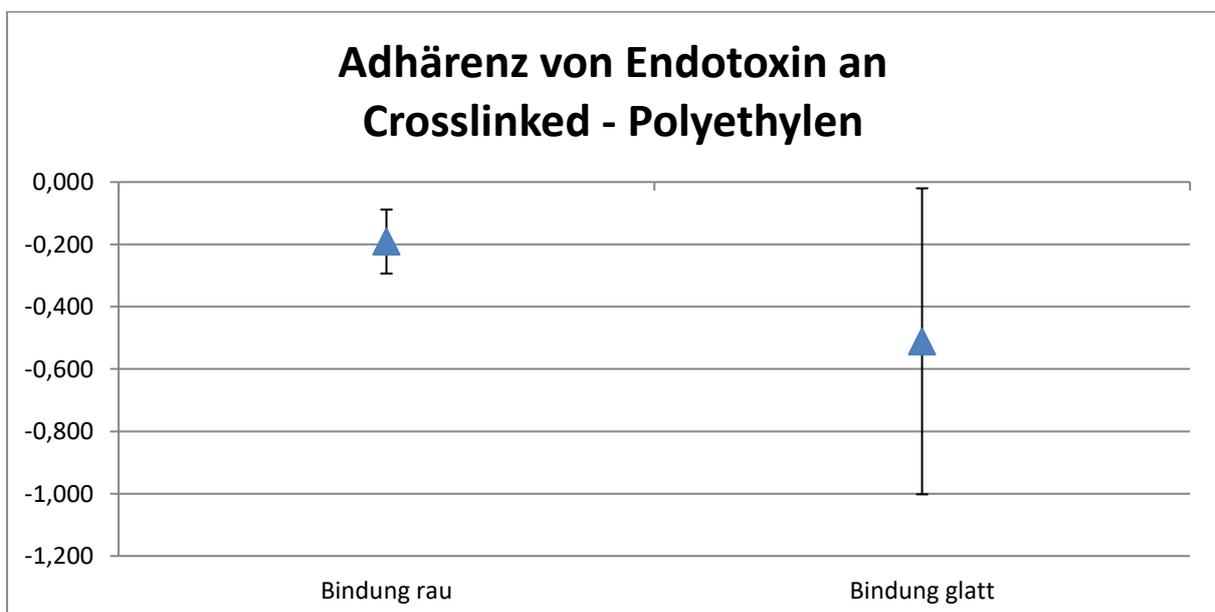


Abbildung 23: Adhärenz von Endotoxin an Crosslinked – Polyethylen

4.1.4 Instrumenten – Stahl

Bei Instrumentenstahl wurden für die statistische Auswertung in der glatten Gruppe 8 Messwerte und in der rauen Gruppe 5 Messwerte durch die Konzentration der dazugehörigen Kontrollmessungen (rau: 3,69 EU / ml, glatt: 3,88 EU / ml) normiert und in der statistischen Auswertung berücksichtigt (Tabelle 9).

Instrumenten – Stahl	Glatt	Rau
Messwert 1 normiert	0,358	0,045
Messwert 2 normiert	0,520	0,122
Messwert 3 normiert	0,109	0,250
Messwert 4 normiert	0,221	0,028
Messwert 5 normiert	0,212	0,071
Messwert 6 normiert	0,363	n.m.
Messwert 7 normiert	0,170	n.m.
Messwert 8 normiert	0,355	n.m.

Tabelle 9: normierte Messwerte Instrumentenstahl

Daraus folgt für die glatte Messgruppe der Wert von 0,289 (Mw) \pm 0,018 (StD). In der rauen Messgruppe von Instrumenten – Stahl lag der Wert bei 0,103 (Mw) \pm 0,008 (StD).

Um die Adhärenz von Endotoxin an Instrumentenstahl zu erhalten, wurden diese Werte im Anschluss von dem Kontrollwert subtrahiert.

Glatter Instrumentenstahl in der Rauheit von 0,67 zeigte in dieser Versuchsreihe ein Bindungsverhalten von Endotoxin an die Oberfläche von ca. 70%, während bei rauem Instrumentenstahl mit einer Rauheit von 0,67 ca. 90% des eingesetzten Endotoxins adhärerten (Abbildung 24). Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,05$).

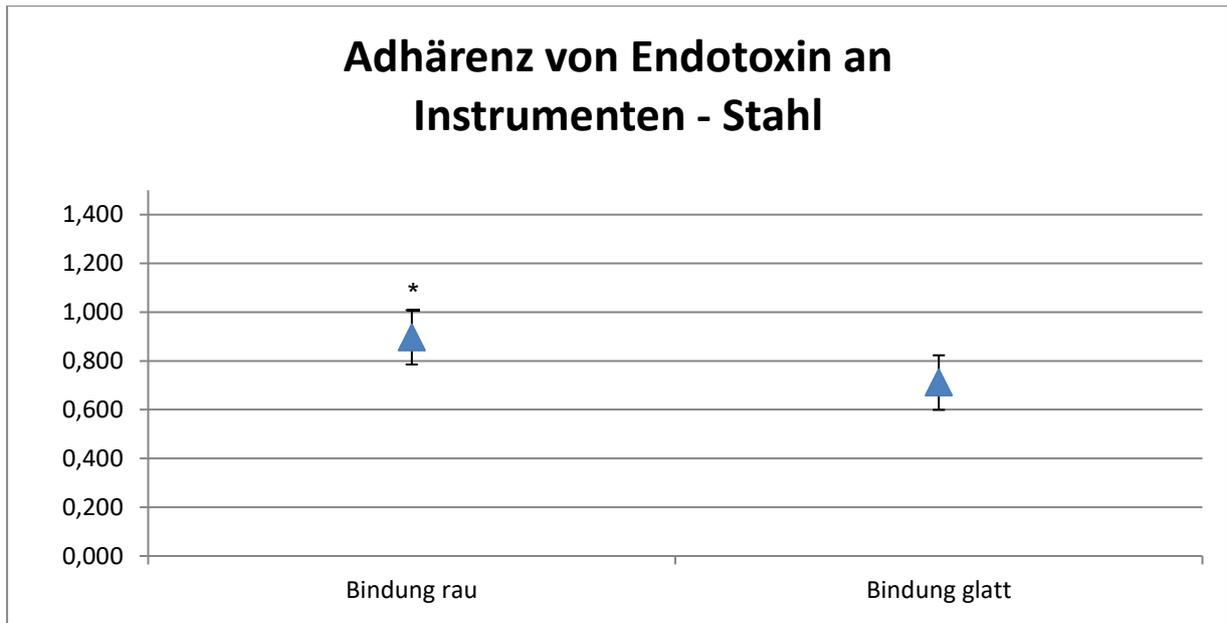


Abbildung 24: Adhärenz von Endotoxin an Instrumenten – Stahl (*=p< 0,05)

4.1.5 Implantat – Stahl

Bei Implantat – Stahl wurden für die statistische Auswertung in der glatten und in der rauhen Gruppe 8 Messwerte durch die Konzentration der dazugehörigen Kontrollmessungen (rau: 2,89 EU / ml, glatt: 2,89 EU / ml) normiert und in der statistischen Auswertung berücksichtigt (Tabelle 10).

Implantat – Stahl	Glatt	Rau
Messwert 1 normiert	0,747	0,343
Messwert 2 normiert	0,699	0,331
Messwert 3 normiert	0,671	0,401
Messwert 4 normiert	0,824	0,495
Messwert 5 normiert	0,619	0,637
Messwert 6 normiert	0,740	0,837
Messwert 7 normiert	0,782	0,370
Messwert 8 normiert	0,785	0,522

Tabelle 10: Normierte Messwerte Implantat – Stahl

Daraus ergab sich der Wert für die glatte Messgruppe von 0,733 (Mw) ± 0,004 (StD). In der rauhen Messgruppe von Implantat – Stahl lag der Wert bei 0,492 (Mw) ± 0,030 (StD).

Um die Adhärenz von Endotoxin an Implantat – Stahl zu erhalten, wurden diese Werte im Anschluss von dem Kontrollwert subtrahiert.

Glatter Implantat – Stahl in der Rauheit von 0,22 zeigte in dieser Versuchsreihe eine Adhärenz von ca. 25% des eingesetzten Endotoxins, während bei rauem Implantat – Stahl mit einer Rauheit von 0,38 ca. 50% des Endotoxins an der Oberfläche adhärten (Abbildung 25). Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,05$).

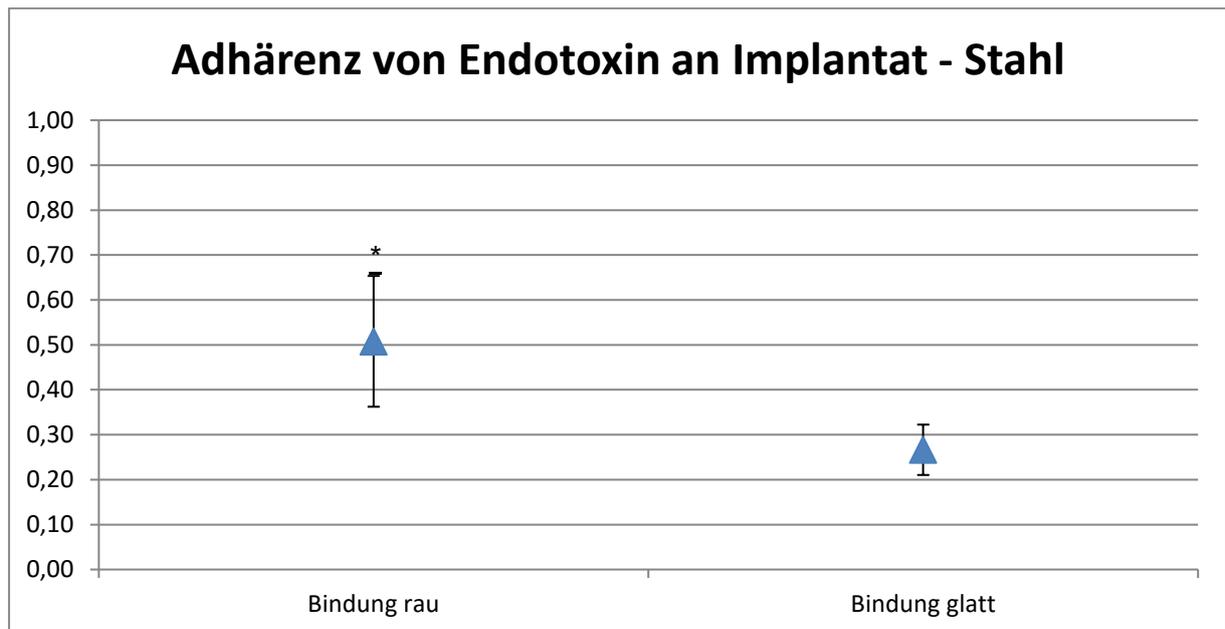


Abbildung 25: Adhärenz von Endotoxin an Implantat – Stahl (*= $p < 0,05$)

4.1.6 Titan

Bei Titan wurden für die statistische Auswertung in der glatten Gruppe 10 und in der rauhen Gruppe 11 Messwerte durch die Konzentration der dazugehörigen Kontrollmessungen (rau: 7,53 EU / ml, glatt: 4,02 EU / ml) normiert und in der statistischen Auswertung berücksichtigt (Tabelle 11).

Titan	Glatt	Rau
Messwert 1 normiert	2,864	0,739
Messwert 2 normiert	2,431	0,838
Messwert 3 normiert	1,323	1,216
Messwert 4 normiert	2,889	1,096
Messwert 5 normiert	2,411	0,849
Messwert 6 normiert	1,567	0,892

Messwert 7 normiert	1,186	0,938
Messwert 8 normiert	1,362	0,973
Messwert 9 normiert	1,044	0,858
Messwert 10 normiert	1,126	0,873
Messwert 11 normiert	n.m.	0,883

Tabelle 11: normierte Messwerte Titan

Daraus ergab sich ein Wert für die glatte Messgruppe von 1,820 (Mw) \pm 0,552 (StD). In der rauhen Messgruppe von Titan lag der Wert bei 0,923 (Mw) \pm 0,017 (StD).

Um die Adhärenz von Endotoxin an Titan zu erhalten, wurden diese Werte im Anschluss von dem Kontrollwert subtrahiert.

Glattes Titan in der Rauheit von 0,51 zeigte in dieser Versuchsreihe einen vermehrten Nachweis von Endotoxin in der Messgruppe als die Kontrolluntersuchung (ca. 1,8 fach erhöhte Endotoxinkonzentration), während bei rauem Titan mit einer Rauheit von 0,78 ca. 10% des Endotoxins an der Oberfläche adhärerten (Abbildung 26). Das Ergebnis war signifikant ($p < 0,05$).

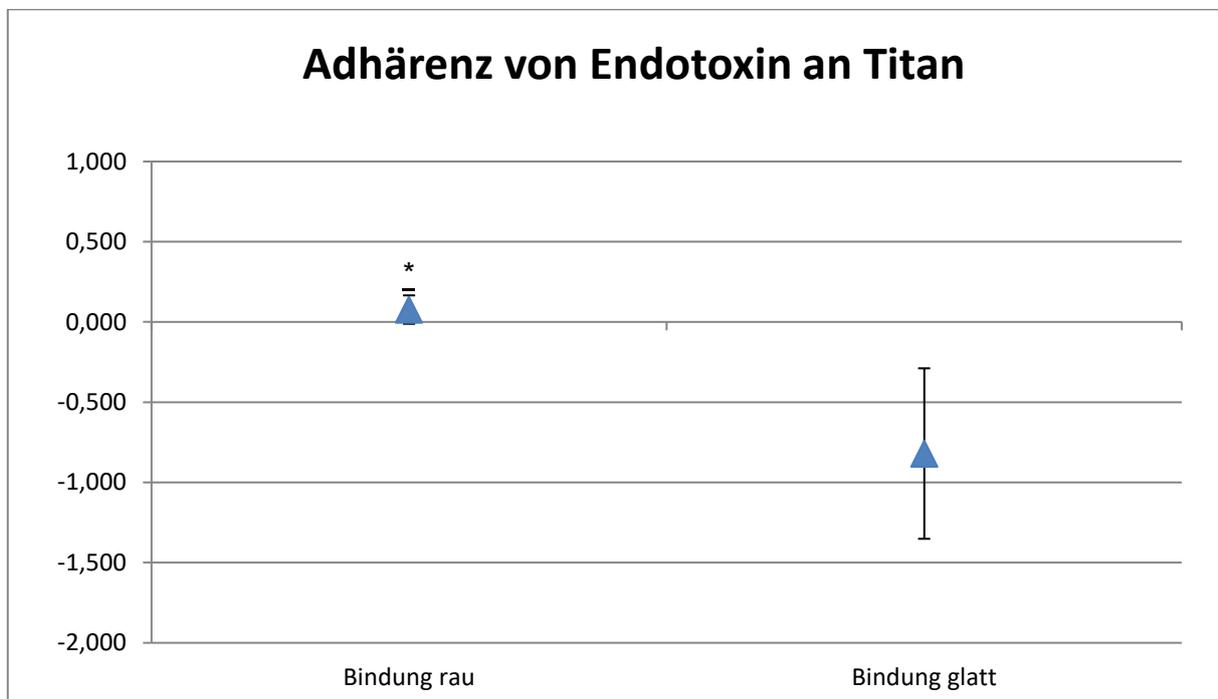


Abbildung 26: Adhärenz von Endotoxin an Titan (*= $p < 0,05$)

4.2 Endotoxinbindung in Abhängigkeit der Rauheit aller getesteten Materialien

In den Messwerten zeigte sich eine Abhängigkeit zwischen Rauheit und Endotoxinbindung für die Testmaterialien. Die nun folgende Auswertung untersuchte den direkten Zusammenhang von der gemessenen Rauheit zu dem gemessenen Bindungsverhalten. Dafür wurde der Mittelwert der Messwerte für jedes Material in beiden Rauigkeiten untersucht.

Die direkte Gegenüberstellung der einzelnen Materialien zeigte damit einen eindeutigen Zusammenhang zwischen der Rauigkeit und der Endotoxinbindung. Für alle Materialien gilt, dass eine höhere Rauigkeit mit einer höheren Endotoxinbindung korreliert (Abbildung 27).

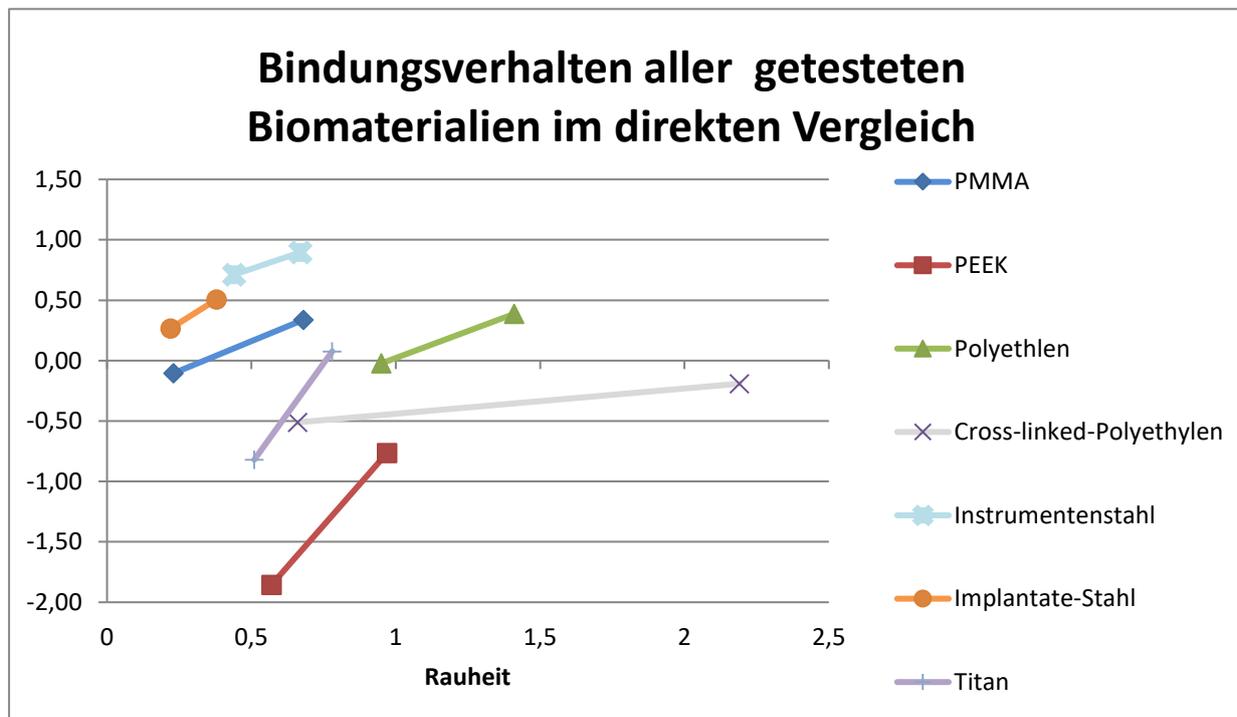


Abbildung 27: alle getesteten Materialien in Abhängigkeit von der Rauheit

Der Unterschied in den Rauigkeiten der jeweiligen Materialien wird in Abbildung 28 dargestellt und mit dem Unterschied der Endotoxinbindung (Abbildung 29) eines Materials verglichen. Daraus ergeben sich materialspezifische Steigungen, die der Korrelation zwischen Zunahme der Rauheit und der zusätzlichen Endotoxinadhärenz widerspiegelt (Abbildung 30). Eine hohe Steigung ist gleichbedeutend mit einer starken Zunahme der Endotoxinbindung. Bei Werkstoffen, die eine niedrige Steigung aufweisen, scheint die Materialrauigkeit weniger Einfluss auf die Adhärenz von Endotoxin aufzuweisen.

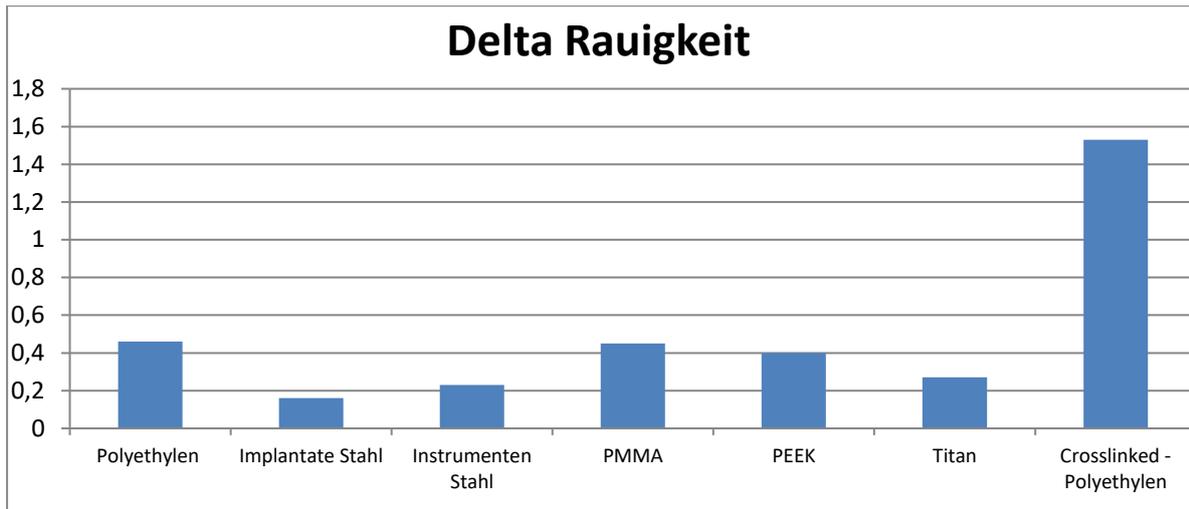


Abbildung 28: Unterschied der Rauheit der Materialien

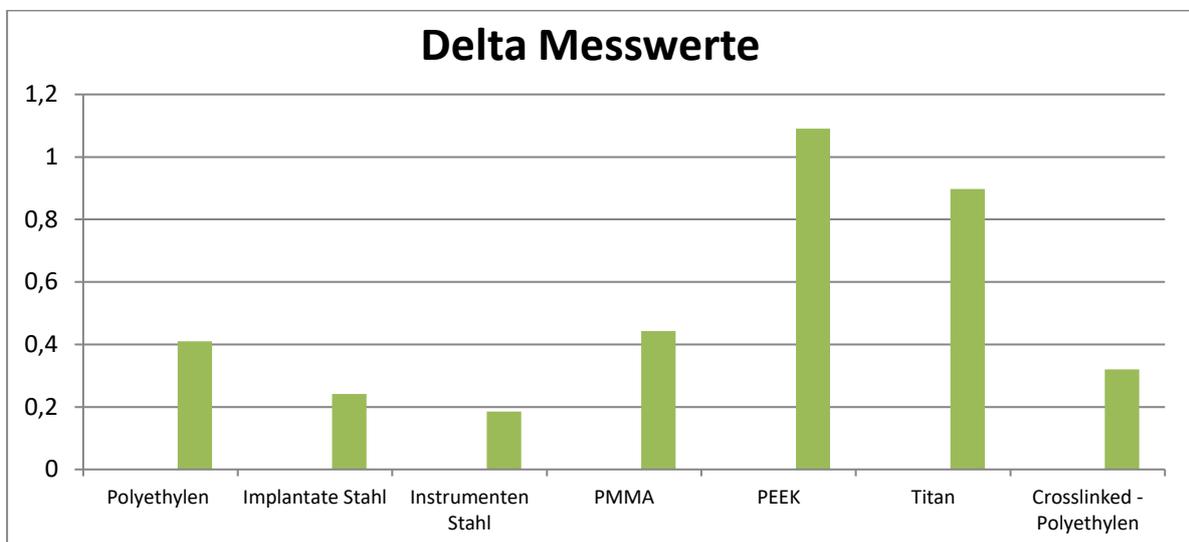


Abbildung 29: Unterschied der Messwerte zwischen der Rauheit eines Materials

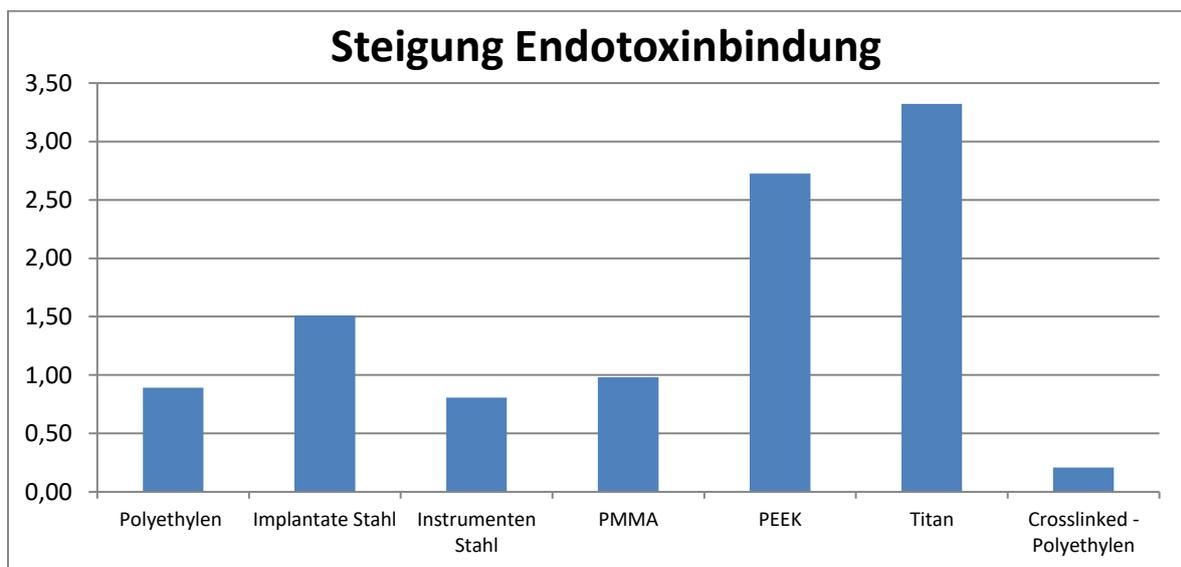


Abbildung 30: Steigung der Endotoxinbindung in Abhängigkeit der Rauheit eines Materials

5. Diskussion

Nach den vorliegenden Ergebnissen ist die Hypothese, dass raue Oberflächen eines Materials eine erhöhte Endotoxin – Adhärenz im Vergleich zu glatten Oberflächen des gleichen Materials aufweisen, bestätigt.

Nach Studienlage ist die Lockerung von Endoprothesen mit dem Abriebverhalten und der Menge, der Partikelgröße und der Form des Abriebes assoziiert [193]. Kleinere Partikel besitzen im Vergleich zu größeren Partikeln eine größere Oberfläche, und durch den daraus resultierenden schlechteren Volumen / Oberflächen – Quotienten eine größere Oberfläche. Dadurch bieten kleinere Partikel eine größere Angriffsfläche für immunkompetente Zellen. Diese lösen eine inflammatorische Kaskade aus, deren Endprodukt die periprothetische Osteolyse darstellt [11, 16, 85, 88, 91, 103, 115, 194, 195]. Nimmt man an, dass bei jedem Schritt ca. 500.000 Abriebpartikel entstehen [196], und setzt eine mittlere Größe von 0,4µm pro Partikel (am Beispiel Polyethylen [86]) an, ergibt das gerundet in 15 Jahren eine Gesamtfläche von annähernd 40m², die eine bioaktive Oberfläche im Körper darstellen. Ebenfalls ist bekannt, dass Endotoxin entzündliche Reaktionen im Körper triggert und Osteolysen induziert [138, 151, 152, 197, 198]. Eine führende Rolle spielt dieser Prozess auf Grund der hohen Keimlast bei zahnmedizinischen Implantaten, sowie der großen Oberfläche von Implantaten, die der Mundflora ausgesetzt ist, so dass oralchirurgische Veröffentlichungen die Verbindung zwischen Endotoxin, dem Biomaterial Titan und Osteolyse mit Limitation der Standzeiten eines Implantates bereits vor mehreren Jahrzehnten postuliert haben [199-201]. Es konnte nachgewiesen werden, dass eine erhöhte Konzentration von Lipopolysacchariden mit einer deutlichen Zunahme von proinflammatorischer Genexpression in der Knochenmatrix, in der ein Titanimplantat verankert ist, korreliert [200] .

Zusätzlich wird vermehrt auf den Zusammenhang zwischen Abriebpartikeln und dem Vorkommen von Endotoxin auf die aseptische Lockerung in der orthopädischen Forschung hingewiesen [202-205]. Die nachgewiesenen Effekte beinhalten sowohl eine Unterdrückung der Osteogenese, eine erhöhte Rate an Knochenresorption, eine Beeinflussung des Remodelling des Knochens, eine Einschränkung der Knochenintegration, ein Knochenverlust im Bereich des Knochen – Implantat –

Interface als auch die Hypothese, dass eine erhöhte Lockerungsrate an Implantaten auftritt [18, 168, 183, 206].

Bisher wurde jedoch noch nicht systematisch der Zusammenhang zwischen Oberflächenstruktur, Beschaffenheit und Materialeigenschaft von Biomaterialien und der Auswirkung auf Endotoxinadhärenz untersucht. Es konnte nur eine Publikation identifiziert werden, welche die Adhärenz von Endotoxin von E. Coli und P. Gingivalis auf PMMA untersucht hat [187]. Es wurde von Gagnon et al. 1994 eine Versuchsreihe an PMMA und PEMA auf ihr Endotoxinbindungsverhalten durchgeführt, jedoch wurde die Adhärenz mit der Menge an Endotoxin gleichgesetzt, die in endotoxinfreier Lösung nach 24 Stunden nachweisbar war. Das bedeutet im Umkehrschluss, dass die Lösungsfähigkeit von gebundenem Endotoxin an einer Oberfläche gemessen wurde, nicht jedoch das direkt adhärierende Endotoxin [187]. Diese Messmethode könnte jedoch fehleranfällig sein, da adhärentes Endotoxin an dem Material verblieben sein kann.

Insofern wurde ein Modell entwickelt, in dem die direkte Bindung von Endotoxin an Materialien getestet werden konnte. Durch den Vergleich der Messungen von Konzentrationen einer Leerprobe und der Lösung nach Inkubation mit den Würfeln kann die direkte Bindung nachgewiesen werden. Das ubiquitäre Vorkommen von Endotoxin könnte die Messmaterialien vorab bereits verunreinigt haben. Um diesen Fehler zu minimieren, wurden die Materialien in Etoxa – Clean © eingelegt. Diese Methode ist der Heißluftsterilisation nach heutiger Kenntnis überlegen [207].

Zusätzlich wird durch die Messung bei 37 ° Celsius eine Umgebung simuliert, die dem humanen Körper bei Normothermie entspricht. Die Möglichkeit, über CNC – gefräste, für diesen Versuchsaufbau eigens hergestellte Deckel sowohl die Kontamination durch die Umgebung minimal zu halten, als auch die Würfeloberfläche mit 99,5 % der rotierenden Endotoxinlösung zu präsentieren, sollte weitere Fehlerquellen reduzieren.

Durch die direkte, leere Kontrollmessung jeder einzelnen Testreihe als Kontrolle darf davon ausgegangen werden, dass die jeweiligen Messungen der Differenz zwischen Kontrolllösung und Testlösung im Bereich des 95 % - Konfidenzintervall als valide betrachtet werden kann.

In der ersten Messreihe (Polymethylmethacrylat) wurde primär kontrolliert, ob der Versuchsaufbau und die Methodik die Hypothese stützen. Demnach wurde primär ein

Werkstoff getestet, dessen Rauheit sich in den beiden Oberflächenkonfigurationen (glatt vs. rau) sehr deutlich unterscheidet. Um bei den Versuchsreihen, die teilweise mit einer geringeren Rauigkeitsdifferenz zwischen den Werkstoffen gefertigt wurden, jedoch eine höhere Sicherheit bei den Testreihen zu erhalten, als auch das Signifikanzniveau zu steigern, wurde das Testverfahren auf mehrere Verdünnungsstufen (1/ 10, 1 / 100, 1 / 1000) umgestellt.

Wünschenswert wären numerische Ergebnisse für alle einzelnen Testungen, jedoch wurde dieses Ziel in erster Linie für die Verdünnungsreihe 1 / 1000 nicht stets erreicht. Diese Ergebnisse fehlen damit in der Beurteilung des Adhärenzverhaltens der Materialien, so dass die Gruppenstärke der einzelnen Testreihen variiert.

PMMA wurde nur in einer Verdünnungsstufe getestet. Auf Grund der Sonderanfertigung als Einzelstücke war jedoch eine neue Testung in mehreren Verdünnungsstufen nicht realisierbar. Das Ergebnis zeigt eine deutliche Mehrbindung von Endotoxin an rauere Oberfläche als an glatter Oberfläche. Der marginale Mehrnachweis an Endotoxin in der Lösung nach der Testreihe an glattem PMMA kann als Messungengenauigkeit interpretiert werden, so dass glattes PMMA nach den vorliegenden Ergebnissen so gut wie keinerlei Adhärenz von Endotoxin zeigt. Das raue PMMA jedoch bindet nachweislich Endotoxin, so dass in der Verarbeitung von Knochenzement auf eine möglichst glatte Oberfläche geachtet werden sollte. Dieses Ergebnis ist für Operateure, die Endoprothesen implantieren, klinisch bedeutsam. Bei der Implantation von Kunstgelenken ist es sogar die einzige Komponente, auf die der Operateur direkten Einfluss hat. Sowohl die Prothesen als auch die Instrumente sind schon gefertigt und damit nicht beeinflussbar.

PEEK zeigt bei der Messung der absoluten Konzentrationen ein dem Testverfahren nicht plausibel erklärbares Verhalten. Demnach sind in der Testlösung nach Ablauf der Testreihe signifikant höhere Konzentrationen an Endotoxin nachgewiesen worden als in der Kontrolllösung initial vorhanden war. Nach Normierung durch die Kontrolllösung lässt sich jedoch mit einem hohen Signifikanzniveau eine deutliche Mehrbindung von Endotoxin an der raueren Oberfläche im Gegensatz zur glatten Oberfläche feststellen. Ein geringer Unterschied in der Rauheit ist hier bereits mit einer massiven Steigerung an Endotoxinbindung am Material messbar.

Polyethylen bestätigt die Hypothese eindrücklich. Eine raue Oberfläche bietet für Endotoxin eine quantitativ wesentlich höhere Affinität als eine glatte Oberfläche. Dieser Werkstoff wird führend als Gleitpaarung im Bereich der Endoprothetik eingesetzt [29]. In dieser Funktion ist zur Optimierung des Abriebverhaltens eine glatte Oberflächenkonfiguration per se gegeben.

Crosslinked – Polyethylen zeigte eine sehr hohe Varianz der Messergebnisse, so dass dort keine ausreichend belastbare Aussage über das Adhärenzverhalten in Abhängigkeit von der Oberflächenrauheit getroffen werden kann.

Diese Auffälligkeit im Vergleich zu konventionellem Polyethylen lässt sich eventuell durch die unterschiedliche Struktur der Polyethylene erklären. Das Crosslinked – Polyethylen besitzt eine geringe Anzahl an freien Kohlenstoffketten [208]. Diese könnten im Umkehrschluss eine höhere Bindungsmöglichkeit für unverlinktes Polyethylen erklären. Da jedoch generell eine negative Affinität bei Crosslinked – Polyethylen auftritt, lässt sich auch argumentieren, dass die Nanostruktur von Crosslinked – Polyethylen der von Endotoxin (bzw. ihrer Kohlenstoffketten) sehr ähnlich scheint und im Testverfahren fälschlicherweise als „Endotoxin“ erkannt worden ist.

Instrumenten – Stahl bindet bereits bei sehr glatter Oberfläche hohe Dosen an Endotoxin. In einer randomisierten Studie mit 80 Patienten wurde prospektiv die Lockerung und Infektionsrate bei Fixateur externe am Handgelenk durchgeführt [209]. Die Lockerung und Infektionsrate lag bei Stahl doppelt so hoch wie bei Titanimplantaten. Eine erhöhte Lockerungsrate von Stahlimplantaten im Gegensatz zu Titanimplantaten [209] könnte somit als Teilaspekt durch das unterschiedliche Bindungsverhalten von Endotoxin an Edelstahl und Titan erklärt werden.

Implantat – Stahl ist auch mit einer erhöhten Affinität zu Endotoxin assoziiert, jedoch in einem deutlich geringeren Maße als der Edelstahl. Hier scheint jedoch schon ein geringerer Unterschied in der Rauheit einen stärkeren Effekt auf das Bindungsverhalten von Endotoxin zu bewirken. Der Unterschied der Stahllegierungen liegt in den zusätzlich eingearbeiteten Stahlbegleitern. Edelstahl, der in der Medizintechnik häufig für Instrumente eingesetzt wird, besteht regelhaft aus einer Chrom – Nickel – Legierung, während für den Implantat – Stahl regelhaft eine Chrom – Kobalt – Legierung benutzt wird. Ob die Legierungen einen relevanten Einfluss auf

das Bindungsverhalten besitzen, kann in dieser Arbeit nicht ausreichend beantwortet werden.

Bei Titan ist eine eklatante Steigerung der Endotoxin – Adhärenz bei geringer Differenz der Rauheit nachweisbar.

Allein die Rauheit korreliert jedoch nicht mit der Endotoxinbindung. Jedes Material scheint ein individuelles Bindungsverhalten zu LPS zu besitzen. Am auffälligsten scheint hier der Vergleich zwischen PEEK und Titan, deren Rauheiten ziemlich ähnlich sind, jedoch eine sehr unterschiedliche Adhärenz an Endotoxin besitzen.

Auch der direkte Vergleich zwischen PMMA und Polyethylen zeigt bei sehr unterschiedlichen Rauheiten ein relativ einheitliches Bild an Bindungsverhalten von Endotoxin.

Die Publikationen im Bereich der Partikelforschung attestieren Endotoxin an Abriebpartikeln als relevanten Ko – Faktor in der aseptischen Lockerung [18, 20, 168]. Abrieb, der durch seine Nanostruktur kumulativ eine imposante Gesamtoberfläche besitzt, ist für Endotoxin hochaffin [181]. Die Vermutung liegt nahe, dass die Kombination aus Vermeidung von Endotoxin durch Herstellungsprozesse und Achtsamkeit bei der Implantation sowie der Reduktion der Abriebpartikel eine Verbesserung der Standzeiten von Endoprothesen nach sich zieht. Darüber hinaus scheint eine niedrige Affinität eines Materials für Endotoxin ein anzustrebendes Ziel der Partikelforschung darzustellen.

Das in dieser Studie vorgestellte Testverfahren kann bisher noch keine ausreichende Aussage über den individuellen Bindungskoeffizienten eines Materials treffen. Auch bleibt die grafische Darstellung als lineare Steigerung bisher nur eine Vermutung. Weitere Untersuchungen in der Materialforschung sind empfehlenswert.

Es lässt sich jedoch aus den Testergebnissen eine signifikante Mehrbindung von Endotoxin bei rauen Oberflächen im Gegensatz zu glatter Oberfläche nachweisen.

Kritisch zu betrachten sind einige Aspekte sowohl in der Methodik als auch bei den Ergebnissen.

Es werden unterschiedliche Materialien in der Orthopädie eingesetzt. Die Studie erhebt demnach keinen Anspruch auf Vollständigkeit der in der Orthopädie

angewandten Materialien. Die ausgewählten Materialien stellen eine selektive Auswahl an Materialien dar. Nach den vorliegenden Standardwerken der Endoprothetik gelten die getesteten Materialien zu den oft verwandten Biomaterialien [27, 29]. Keramik, ein heutzutage häufig eingesetztes Material in der Gleitpaarung [63], ließ sich leider nicht in der rauen und glatten Würfelkonfiguration herstellen, so dass leider das Endotoxin – Adhärenzverhalten von Keramik nicht untersucht werden konnte.

Ebenfalls nicht ausreichend beantwortet werden kann die Frage, welche Rauheiten klinisch angewandte Biomaterialien de facto besitzen. Die getesteten Materialien sind von der Firma Aesculap ® gefertigt und bereitgestellt worden. Jegliches Material ist sowohl poliert als auch matt gefertigt worden, wobei die polierte Oberfläche den metallischen Werkstoffen in der Endoprothetik entsprechen sollte. Die Rauigkeit der Werkstoffe ist nach der Fertigung gemessen worden, und es kann nicht sicher verifiziert werden, dass die getesteten Oberflächen auch den Rauheiten der in der klinischen Anwendung befindlichen Materialien exakt entsprechen. Es darf jedoch davon ausgegangen werden, dass die matten Werkstoffe deutlich rauere Oberflächen aufweisen als die Kontaktfläche von Bauteilen, die in der Endoprothetik implantiert werden.

Kritisch betrachtet wird das Ansetzen von mehreren Testlösungen während der gesamten Testreihe, so dass Unterschiede in den Testlösungen nicht ausgeschlossen werden können und dürfen. Bei den Messwerten kann klar erkannt werden, dass die Kontrollwerte nicht konstant belastbare Ergebnisse liefern. Demnach muss die Einschränkung zulässig erachtet werden, dass das Ansetzen einer Testlösung aus 12.5 Mio EU an Endotoxin in Verdünnungsreihen bis zur angestrebten Konzentration von 0,5 EU / ml fehleranfällig erscheint.

Ein weiterer Kritikpunkt stellt sich durch unterschiedliche Testungen der Materialien. Während im Vorversuch nur eine Verdünnungsstufe (1 / 10) getestet wurde, sind die weiteren Materialien in 3 Verdünnungsstufen (1 / 10, 1 / 100, 1 / 1000) getestet worden. Jedoch waren alle Testwürfel Einzelstücke in Sonderanfertigung, so dass keine erneute Testung mit PMMA in der neuen Testmethode realisierbar war. Die Verbesserung der Auswertung durch mehrere Verdünnungsreihen erhöht die Genauigkeit und die Gruppenstärke. Um jedoch festzustellen, ob das Modell den erdachten Anforderungen genügt, wurde initial nur eine Testreihe durchgeführt.

Auch die statistische Methode kann kritisiert werden. Die Analyse der Rohdaten wäre ebenfalls möglich gewesen. Negativ wirkte sich dabei jedoch aus, dass durch unterschiedliche Testlösungen und 14 verschiedene Testgruppen eine hohe Streuung der Messwerte aufgetreten ist. Darüber hinaus war das primäre Ziel der Arbeit zu prüfen, ob innerhalb eines Materials die Rauheit einen Einfluss auf die Bindung von Endotoxin besitzt. Dafür war die Normierung notwendig, und die Ergebnisse der ANOVA-Analyse innerhalb der einzelnen Testgruppen geben eine valide Aussage über das Modell und die Abhängigkeit der Adhärenz von Endotoxin von der Rauheit der Oberfläche.

Es wäre erstrebenswert, sowohl mehrere Rauheiten eines Materials als auch mehrere Konzentrationen an Endotoxin – Lösungen in weiteren Arbeiten gegeneinander zu testen, um die Ergebnisse zu stützen und den fraglich linearen Anstieg der Endotoxin – Bindung zu validieren.

6. Zusammenfassung

Der Gelenkersatz ist in der Orthopädie ein Standardverfahren, erzeugt jedoch die höchsten stationären Kosten im Gesundheitssystem. Trotz guter klinischer Ergebnisse mit einer Standzeit von über 10 Jahren bei 90 % der implantierten Knie – und Hüftgelenke nehmen die notwendigen Endoprothesenwechsel bei zunehmender Alterung der Bevölkerung zu und liegen sowohl bei der Knie – als auch der Hüftendoprothetik bereits bei 10 % der Eingriffe. Die Revisionsendoprothetik ist mit einem deutlich erhöhten Komplikationsrisiko behaftet. Sowohl der durch mechanische Beanspruchung entstehende Abrieb von Prothesenoberflächen als auch Zellwandbestandteile gramnegativer Mikroorganismen, das sogenannte Endotoxin, können zu Osteolysen führen, in dessen Folge eine Lockerung des Gelenkersatzes droht.

Das in der Endoprothetik verwandte Material muss dabei unterschiedlichen Ansprüchen genügen. Einerseits wird eine gewisse Rauheit von Implantaten vorausgesetzt, um die Osteointegration zu fördern, während Gleitpaarungen möglichst hart und glatt gefertigt sein müssen, um den Abrieb gering zu halten.

Um die Hypothese zu testen, dass Materialien mit rauer Oberfläche eine höhere Affinität zu Endotoxin besitzen als glatte Oberflächen, wird in dieser Studie als Ziel ein

in vitro Modell erarbeitet, mit dem direkt der Nachweis von Endotoxin – Adhärenz erbracht werden soll. Diverse Materialien wurde in jeweils 2 bekannten Rauheiten in einer Endotoxin – haltigen Lösung untersucht. Die Konzentration im Überstand der Messlösung wurde dann mit der Konzentration der eingesetzten Testlösung verglichen. Die Differenz war die Menge an Endotoxin, die an der Oberfläche adhärierte.

Es wurden insgesamt sieben häufig in der Endoprothetik verwandte Werkstoffe in jeweils zwei Rauigkeiten getestet: Titan, Cobalt – Chrom, Polymethymethacrylat, Polyethylen, Crosslinked – Polyethylen, Polyetheretherketon sowie rostfreier Edelstahl.

Die statistische Auswertung verglich jeweils die einzelnen Materialien in ihren beiden Rauigkeiten.

Die Ergebnisse zeigten, dass das Modell die Hypothese bestätigt. Sowohl PEEK, Co – Cr, PE, Ti und Edelstahl zeigen eine signifikante Mehrbindung ($p < 0,05$) von Endotoxin an rauer als an glatter Oberfläche. Bei PMMA konnte ein Trend festgestellt werden, jedoch war die Mehrbindung von Endotoxin an rauem PMMA nicht signifikant ($p > 0,05$). Nur bei Crosslinked – Polyethylen konnte das Modell keine Mehrbindung an Endotoxin zeigen ($p > 0,05$).

Es kann an Hand der Ergebnisse argumentiert werden, dass es Materialien gibt, die bei gleicher Rauheit eine höhere Affinität zu Endotoxin aufweisen als andere. Des Weiteren scheint es Materialien zu geben, bei denen eine rauere Oberfläche weniger Einfluss auf die Mehrbindung von Endotoxin besitzt als bei anderen Biomaterialien. Eine Vermeidung von unnötig rauen Materialien und der bevorzugte Einsatz von Materialien, die eine geringe Affinität an Endotoxin besitzen, scheint daher zur Prophylaxe einer aseptischen Lockerung von Endoprothesen vorteilhaft zu sein.

7. Literaturverzeichnis

1. Lafortune, G., *OECD: Health at a Glance 2013*, OECD, Editor. 2013, OECD Publishing.
2. Kandala, N.B., et al., *Setting benchmark revision rates for total hip replacement: analysis of registry evidence*. *BMJ*, 2015. **350**: p. h756.
3. Cnudde, P.H.J., et al., *Risk of further surgery on the same or opposite side and mortality after primary total hip arthroplasty: A multi-state analysis of 133,654 patients from the Swedish Hip Arthroplasty Register*. *Acta Orthop*, 2018. **89**(4): p. 386-393.
4. Varnum, C., *Outcomes of different bearings in total hip arthroplasty - implant survival, revision causes, and patient-reported outcome*. *Dan Med J*, 2017. **64**(3).
5. Hofmann, S., et al., *[Rotational malalignment of the components may cause chronic pain or early failure in total knee arthroplasty]*. *Orthopade*, 2003. **32**(6): p. 469-76.
6. Lawrence, R.J., *Urban health challenges in Europe*. *J Urban Health*, 2013. **90** **Suppl 1**: p. 23-36.
7. Kurtz, S., et al., *Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030*. *J Bone Joint Surg Am*, 2007. **89**(4): p. 780-5.
8. Meyer, Z., et al., *Age and Early Revision After Primary Total Hip Arthroplasty for Osteoarthritis*. *Orthopedics*, 2017. **40**(6): p. e1069-e1073.
9. Asano, T., et al., *Dose effects of cross-linking polyethylene for total knee arthroplasty on wear performance and mechanical properties*. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2007. **83**(2): p. 615-22.
10. Digas, G., et al., *Highly cross-linked polyethylene in cemented THA: randomized study of 61 hips*. *Clin Orthop Relat Res*, 2003(417): p. 126-38.
11. Purdue, P.E., et al., *The cellular and molecular biology of periprosthetic osteolysis*. *Clin Orthop Relat Res*, 2007. **454**: p. 251-61.
12. Rasanen, P., et al., *Effectiveness of hip or knee replacement surgery in terms of quality-adjusted life years and costs*. *Acta Orthop*, 2007. **78**(1): p. 108-15.
13. Merx, H., K.E. Dreinhofer, and K.P. Gunther, *[Socioeconomic relevance of osteoarthritis in Germany]*. *Z Orthop Unfall*, 2007. **145**(4): p. 421-9.
14. A, N.A.R., *Australian orthopedic association national joint replacement annual report 2015*. 2015, The university of Adelaide: Australia.
15. Nawata, K., et al., *[Relationship between the number of steps taken and body mass index for male workers in the metropolitan area]*. *Sangyo Eiseigaku Zasshi*, 2006. **48**(5): p. 176-82.
16. Fisher, J., et al., *Wear, debris, and biologic activity of cross-linked polyethylene in the knee: benefits and potential concerns*. *Clin Orthop Relat Res*, 2004(428): p. 114-9.
17. Bitar, D. and J. Parvizi, *Biological response to prosthetic debris*. *World J Orthop*, 2015. **6**(2): p. 172-89.
18. Greenfield, E.M., et al., *Does endotoxin contribute to aseptic loosening of orthopedic implants?* *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2005. **72**(1): p. 179-85.
19. Greenfield, E.M., et al., *Bacterial pathogen-associated molecular patterns stimulate biological activity of orthopaedic wear particles by activating cognate Toll-like receptors*. *J Biol Chem*, 2010. **285**(42): p. 32378-84.
20. Bechtel, C.P., et al., *Particle-Induced Osteolysis Is Mediated by TIRAP/Mal in Vitro and in Vivo: Dependence on Adherent Pathogen-Associated Molecular Patterns*. *J Bone Joint Surg Am*, 2016. **98**(4): p. 285-94.
21. Alley, C., W. Haggard, and R. Smith, *Effect of UHMWPE particle size, dose, and endotoxin on in vitro macrophage response*. *J Long Term Eff Med Implants*, 2014. **24**(1): p. 45-56.
22. Rietschel, E.T. and H. Brade, *Bacterial endotoxins*. *Sci Am*, 1992. **267**(2): p. 54-61.
23. Katz, J.N., et al., *Differences between men and women undergoing major orthopedic surgery for degenerative arthritis*. *Arthritis Rheum*, 1994. **37**(5): p. 687-94.
24. Harris, W.H. and C.B. Sledge, *Total hip and total knee replacement (1)*. *N Engl J Med*, 1990. **323**(11): p. 725-31.
25. Graves, E.J., *National Hospital Discharge Survey*. *Vital Health Stat 13*, 1989(99): p. 1-60.

26. Blauth, W. and K. Donner, *[Notes on the history of arthroplasty (author's transl)]*. Z Orthop Ihre Grenzgeb, 1979. **117**(6): p. 997-1006.
27. Wirtz, D.C., *AE Manual der Endoprothetik Kniegelenk* Vol. 1. 2011: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 296.
28. Judet, J. and R. Judet, *The use of an artificial femoral head for arthroplasty of the hip joint*. J Bone Joint Surg Br, 1950. **32-B**(2): p. 166-73.
29. Claes, L., *AE-Manual der Endoprothetik Hüfte und Hüftrevision*. 2012: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 599.
30. McKee, G.K., *The Norwich method of total hip replacement: development and main indications*. Ann R Coll Surg Engl, 1974. **54**(2): p. 53-62.
31. Haboush, E.J., *A new operation for arthroplasty of the hip based on biomechanics, photoelasticity, fast-setting dental acrylic, and other considerations*. Bull Hosp Joint Dis, 1953. **14**(2): p. 242-77.
32. Schulitz, K.P., W. Winkelmann, and B. Schoening, *The prophylactic use of antibiotics in alloarthroplasty of the hip joint for coxarthrosis*. Arch Orthop Trauma Surg, 1980. **96**(2): p. 79-82.
33. Charnley, J., *Using Teflon in arthroplasty of the hip-joint*. J Bone Joint Surg Am, 1966. **48**(4): p. 819.
34. Charnley, J., *The long-term results of low-friction arthroplasty of the hip performed as a primary intervention*. J Bone Joint Surg Br, 1972. **54**(1): p. 61-76.
35. Gunston, F.H., *Polycentric knee arthroplasty. Prosthetic simulation of normal knee movement*. J Bone Joint Surg Br, 1971. **53**(2): p. 272-7.
36. Gunston, F.H. and R.I. MacKenzie, *Complications of polycentric knee arthroplasty*. Clin Orthop Relat Res, 1976(120): p. 11-7.
37. Lord, G. and P. Bancel, *The madreporic cementless total hip arthroplasty. New experimental data and a seven-year clinical follow-up study*. Clin Orthop Relat Res, 1983(176): p. 67-76.
38. Mittelmeier, H., J. Heisel, and E. Schmitt, *[Replacement of the hip joint in young patients under 40 years of age. Clinico-statistical report of experiences]*. Z Orthop Ihre Grenzgeb, 1988. **126**(3): p. 304-13.
39. Huo, M.H., et al., *Total hip arthroplasty using the Zweymuller stem implanted without cement. A prospective study of consecutive patients with minimum 3-year follow-up period*. J Arthroplasty, 1995. **10**(6): p. 793-9.
40. Robinson, R.P., T.P. Lovell, and T.M. Green, *Hip arthroplasty using the cementless CLS stem. A 2--4-year experience*. J Arthroplasty, 1994. **9**(2): p. 177-92.
41. Epinette, J.A., M. Brax, and Y. Chammai, *A predictive radiological analysis of short stems versus both shortened and long stems in primary hip replacement: A case-control study of 100 cases of Metha versus ABG II and Omnifit HA at 2-8years' follow-up*. Orthop Traumatol Surg Res, 2017. **103**(7): p. 981-986.
42. von Lewinski, G. and T. Floerkemeier, *10-year experience with short stem total hip arthroplasty*. Orthopedics, 2015. **38**(3 Suppl): p. S51-6.
43. Masakane, I., et al., *Bacteriological qualities of dialysis fluid in Japan as of 31 December 2006*. Ther Apher Dial, 2008. **12**(6): p. 457-63.
44. Iseki, F. and T. Tomatsu, *The biomechanics of the knee joint with special reference to the contact area*. Keio J Med, 1976. **25**(1): p. 37-44.
45. Hungerford, D.S. and M. Barry, *Biomechanics of the patellofemoral joint*. Clin Orthop Relat Res, 1979(144): p. 9-15.
46. Learmonth, I.D., C. Young, and C. Rorabeck, *The operation of the century: total hip replacement*. Lancet, 2007. **370**(9597): p. 1508-19.
47. wikipedia. <https://de.wikipedia.org/wiki/Deutschland>. 2017.
48. Kamath, A.F., et al., *Medical resource utilization and costs for total hip arthroplasty: benchmarking an anterior approach technique in the Medicare population*. J Med Econ, 2017: p. 1-7.

49. Martinez-Cano, J.P., et al., *Prospective quality of life assessment after hip and knee arthroplasty: short- and mid-term follow-up results*. *Arthroplast Today*, 2017. **3**(2): p. 125-130.
50. Kim, S.C., et al., *Surgical accuracy, function, and quality of life of simultaneous versus staged bilateral Total hip Arthroplasty in patients with Osteonecrosis of the femoral head*. *BMC Musculoskelet Disord*, 2017. **18**(1): p. 266.
51. Schmitz, M., et al., *Systematic review: lack of evidence for the success of revision arthroplasty outcome in younger patients*. *Hip Int*, 2017: p. 0.
52. Wengler, A., U. Nimptsch, and T. Mansky, *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*. *Dtsch Arztebl Int*, 2014. **111**(23-24): p. 407-16.
53. Memtsoudis, S.G., et al., *Demographics, outcomes, and risk factors for adverse events associated with primary and revision total hip arthroplasties in the United States*. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)*, 2010. **39**(8): p. E72-7.
54. Panegrossi, G., et al., *Bone loss management in total knee revision surgery*. *Int Orthop*, 2014. **38**(2): p. 419-27.
55. Luttjeboer, J.S., et al., *Revision Total Knee Arthroplasty for Instability-Outcome for Different Types of Instability and Implants*. *J Arthroplasty*, 2016. **31**(12): p. 2672-2676.
56. Robinson, A.H., C.R. Palmer, and R.N. Villar, *Is revision as good as primary hip replacement? A comparison of quality of life*. *J Bone Joint Surg Br*, 1999. **81**(1): p. 42-5.
57. Witjes, S., et al., *[Complications within two years after revision of total hip prostheses]*. *Ned Tijdschr Geneesk*, 2007. **151**(35): p. 1928-34.
58. Bozic, K.J., et al., *Hospital resource utilization for primary and revision total hip arthroplasty*. *J Bone Joint Surg Am*, 2005. **87**(3): p. 570-6.
59. Registry, N.J.R., *Annual Report 2016*. 2016, Australian Orthopedic Association.
60. Sheng, P., et al., *Patient outcome following revision total knee arthroplasty: a meta-analysis*. *Int Orthop*, 2004. **28**(2): p. 78-81.
61. Gittens, R.A., et al., *Implant osseointegration and the role of microroughness and nanostructures: lessons for spine implants*. *Acta Biomater*, 2014. **10**(8): p. 3363-71.
62. Schwartz, Z., et al., *Effect of micrometer-scale roughness of the surface of Ti6Al4V pedicle screws in vitro and in vivo*. *J Bone Joint Surg Am*, 2008. **90**(11): p. 2485-98.
63. Morlock, M.M. and M. Jager, *[Endoprotheses in the elderly : Biomaterials, implant selection and fixation technique]*. *Orthopade*, 2017. **46**(1): p. 4-17.
64. Batailler, C., et al., *Influence of femoral broach shape on stem alignment using anterior approach for total hip arthroplasty: A radiologic comparative study of 3 different stems*. *PLoS One*, 2018. **13**(10): p. e0204591.
65. Jager, M., et al., *A multicenter approach evaluating the impact of vitamin e-blended polyethylene in cementless total hip replacement*. *Orthop Rev (Pavia)*, 2014. **6**(2): p. 5285.
66. Holzwarth, U., et al., *[Metallurgical differentiation of cobalt-chromium alloys for implants]*. *Orthopade*, 2005. **34**(10): p. 1046-7, 1049-51.
67. Blomer, W., *[Knee endoprotheses: problems and technological developments from the manufacturer's point of view]*. *Orthopade*, 2000. **29**(8): p. 688-96.
68. Plitz, W., *[Knee endoprosthesis: selection and requirements of materials]*. *Orthopade*, 2000. **29**(8): p. 727-31.
69. Kurtz, S.M., H.A. Gawel, and J.D. Patel, *History and systematic review of wear and osteolysis outcomes for first-generation highly crosslinked polyethylene*. *Clin Orthop Relat Res*, 2011. **469**(8): p. 2262-77.
70. Paulus, A.C., et al., *Histopathological Analysis of PEEK Wear Particle Effects on the Synovial Tissue of Patients*. *Biomed Res Int*, 2016. **2016**: p. 2198914.
71. Grupp, T.M., et al., *Biotribology of alternative bearing materials for unicompartmental knee arthroplasty*. *Acta Biomater*, 2010. **6**(9): p. 3601-10.

72. Lorber, V., et al., *Elevated cytokine expression of different PEEK wear particles compared to UHMWPE in vivo*. J Mater Sci Mater Med, 2014. **25**(1): p. 141-9.
73. (ISO), I.O.f.S., *ISO 21535:2007 Non-active surgical implants -- Joint replacement implants -- Specific requirements for hip-joint replacement implants*. 2007: Geneva: International Organization for Standardization.
74. (ISO), I.O.f.S., *ISO 7206-2:2011 Implants for surgery -- Partial and total hip joint prostheses -- Part 2: Articulating surfaces made of metallic, ceramic and plastics materials*, in *ISO 7206-2:2011 Implants for surgery -- Partial and total hip joint prostheses -- Part 2: Articulating surfaces made of metallic, ceramic and plastics materials*. 2011, International Organization of Standardization: Geneva: International Organization of Standardization.
75. (ISO), I.O.o.S., *ISO 7207-2:2011 Components for partial and total knee joint prostheses - Part 2: Articulating surfaces made of metal, ceramic and plastics material*, in *ISO 7207-2:2011 Components for partial and total knee joint prostheses - Part 2: Articulating surfaces made of metal, ceramic and plastics material+*. 2011, International Organization of Standardization Geneva: International Organization for Standardization.
76. Affatato, S., et al., *Isolation and morphological characterisation of UHMWPE wear debris generated in vitro*. Biomaterials, 2001. **22**(17): p. 2325-31.
77. Muratoglu, O.K., et al., *Surface analysis of early retrieved acetabular polyethylene liners: a comparison of conventional and highly crosslinked polyethylenes*. J Arthroplasty, 2004. **19**(1): p. 68-77.
78. Wimmer, M., *Wear of the Polyethylene Component Created by Rolling Motion of the Artificial Knee Joint*. 2000, Aachen: Shaker.
79. Kurtz, S., *The UHMWPE Handbook: Ultra-High Molecular Weight Polyethylene in Total Joint Replacement*. Ultra-High Molecular Weight Polyethylene in Total Joint Replacement. 2004. 568.
80. Rostoker, W., *The appearances of wear on polyethylene--a comparison of in vivo and in vitro wear surfaces*. J Biomed Mater Res, 1978. **12**(3): p. 317-35.
81. Willie, B.M., et al., *Possible explanation for the white band artifact seen in clinically retrieved polyethylene tibial components*. J Biomed Mater Res, 2000. **52**(3): p. 558-66.
82. McKellop, H.A., et al., *The origin of submicron polyethylene wear debris in total hip arthroplasty*. Clin Orthop Relat Res, 1995(311): p. 3-20.
83. Florez-Pregonero, A., et al., *Feasibility of using pedometers in a state-based surveillance system: 2014 Arizona Behavioral Risk Factor Surveillance System*. J Sport Health Sci, 2018. **7**(1): p. 34-41.
84. Menai, M., et al., *Cross-Sectional and longitudinal associations of objectively-measured physical activity on blood pressure: evaluation in 37 countries*. Health Promot Perspect, 2017. **7**(4): p. 190-196.
85. Ingham, E. and J. Fisher, *Biological reactions to wear debris in total joint replacement*. Proc Inst Mech Eng H, 2000. **214**(1): p. 21-37.
86. Utzschneider, S., et al., *Influence of design and bearing material on polyethylene wear particle generation in total knee replacement*. Acta Biomater, 2009. **5**(7): p. 2495-502.
87. Kim, Y.H., J.H. Oh, and S.H. Oh, *Osteolysis around cementless porous-coated anatomic knee prostheses*. J Bone Joint Surg Br, 1995. **77**(2): p. 236-41.
88. Dumbleton, J.H., M.T. Manley, and A.A. Edidin, *A literature review of the association between wear rate and osteolysis in total hip arthroplasty*. J Arthroplasty, 2002. **17**(5): p. 649-61.
89. Hallab, N.J. and J.J. Jacobs, *Biologic effects of implant debris*. Bull NYU Hosp Jt Dis, 2009. **67**(2): p. 182-8.
90. Warme, B.A., et al., *Proinflammatory mediator expression in a novel murine model of titanium-particle-induced intramedullary inflammation*. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2004. **71**(2): p. 360-6.
91. Merkel, K.D., et al., *Tumor necrosis factor-alpha mediates orthopedic implant osteolysis*. Am J Pathol, 1999. **154**(1): p. 203-10.

92. Zysk, S.P., et al., *Influence of orthopedic particulate biomaterials on inflammation and synovial microcirculation in the murine knee joint.* J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2004. **71**(1): p. 108-15.
93. Schwarz, E.M., et al., *Quantitative small-animal surrogate to evaluate drug efficacy in preventing wear debris-induced osteolysis.* J Orthop Res, 2000. **18**(6): p. 849-55.
94. Zysk, S.P., et al., *Particles of all sizes provoke inflammatory responses in vivo.* Clin Orthop Relat Res, 2005(433): p. 258-64.
95. Zhang, K., et al., *Different influence of Ti, PMMA, UHMWPE, and Co-Cr particles on peripheral blood monocytes during periprosthetic inflammation.* J Biomed Mater Res A, 2015. **103**(1): p. 358-64.
96. Rakshit, D.S., et al., *Involvement of complement receptor 3 (CR3) and scavenger receptor in macrophage responses to wear debris.* J Orthop Res, 2006. **24**(11): p. 2036-44.
97. Rakshit, D.S., et al., *Wear debris inhibition of anti-osteoclastogenic signaling by interleukin-6 and interferon-gamma. Mechanistic insights and implications for periprosthetic osteolysis.* J Bone Joint Surg Am, 2006. **88**(4): p. 788-99.
98. Schwarz, E.M., et al., *Tumor necrosis factor-alpha/nuclear transcription factor-kappaB signaling in periprosthetic osteolysis.* J Orthop Res, 2000. **18**(3): p. 472-80.
99. Gehrke, T., et al., *Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand is expressed in resident and inflammatory cells in aseptic and septic prosthesis loosening.* Scand J Rheumatol, 2003. **32**(5): p. 287-94.
100. Schmalzried, T.P., M. Jasty, and W.H. Harris, *Periprosthetic bone loss in total hip arthroplasty. Polyethylene wear debris and the concept of the effective joint space.* J Bone Joint Surg Am, 1992. **74**(6): p. 849-63.
101. Willert, H.G. and M. Semlitsch, *Reactions of the articular capsule to wear products of artificial joint prostheses.* J Biomed Mater Res, 1977. **11**(2): p. 157-64.
102. Ingham, E., et al., *Production of TNF-alpha and bone resorbing activity by macrophages in response to different types of bone cement particles.* Biomaterials, 2000. **21**(10): p. 1005-13.
103. Nakashima, Y., et al., *Signaling pathways for tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 expression in human macrophages exposed to titanium-alloy particulate debris in vitro.* J Bone Joint Surg Am, 1999. **81**(5): p. 603-15.
104. Blaine, T.A., et al., *Increased levels of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 protein and messenger RNA in human peripheral blood monocytes due to titanium particles.* J Bone Joint Surg Am, 1996. **78**(8): p. 1181-92.
105. Boyle, W.J., W.S. Simonet, and D.L. Lacey, *Osteoclast differentiation and activation.* Nature, 2003. **423**(6937): p. 337-42.
106. Sabokbar, A., et al., *Human arthroplasty derived macrophages differentiate into osteoclastic bone resorbing cells.* Ann Rheum Dis, 1997. **56**(7): p. 414-20.
107. Nicholson, G.C., et al., *Induction of osteoclasts from CD14-positive human peripheral blood mononuclear cells by receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL).* Clin Sci (Lond), 2000. **99**(2): p. 133-40.
108. Quinn, J.M., et al., *A combination of osteoclast differentiation factor and macrophage-colony stimulating factor is sufficient for both human and mouse osteoclast formation in vitro.* Endocrinology, 1998. **139**(10): p. 4424-7.
109. Hattersley, G., et al., *Macrophage colony stimulating factor (M-CSF) is essential for osteoclast formation in vitro.* Biochem Biophys Res Commun, 1991. **177**(1): p. 526-31.
110. Hsu, H., et al., *Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. **96**(7): p. 3540-5.
111. Bauer, T.W., *Particles and periimplant bone resorption.* Clin Orthop Relat Res, 2002(405): p. 138-43.
112. Landgraeber, S., et al., *The pathology of orthopedic implant failure is mediated by innate immune system cytokines.* Mediators Inflamm, 2014. **2014**: p. 185150.

113. Haynes, D.R., et al., *The osteoclastogenic molecules RANKL and RANK are associated with periprosthetic osteolysis*. J Bone Joint Surg Br, 2001. **83**(6): p. 902-11.
114. Smith, R.A. and N.J. Hallab, *In vitro macrophage response to polyethylene and polycarbonate-urethane particles*. J Biomed Mater Res A, 2010. **93**(1): p. 347-55.
115. Bi, Y., et al., *Adherent endotoxin on orthopedic wear particles stimulates cytokine production and osteoclast differentiation*. J Bone Miner Res, 2001. **16**(11): p. 2082-91.
116. Rietschel, E.T., et al., *Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function*. FASEB J, 1994. **8**(2): p. 217-25.
117. Hanes, F.M., *An Immunological Study of Pneumococcus Mucosus*. J Exp Med, 1914. **19**(1): p. 38-51.
118. Pfeiffer, R., *I.-Preliminary Communication on the Exciting causes of Influenza*. Br Med J, 1892. **1**(1620): p. 128.
119. Raetz, C.R., *Biochemistry of endotoxins*. Annu Rev Biochem, 1990. **59**: p. 129-70.
120. Clifton, L.A., et al., *An Accurate In Vitro Model of the E. coli Envelope*. Angew Chem Weinheim Bergstr Ger, 2015. **127**(41): p. 12120-12123.
121. Westphal, O., et al., *Bacterial lipopolysaccharide and its lipid A component: some historical and some current aspects*. Biochem Soc Trans, 1981. **9**(3): p. 191-5.
122. Alexander, C. and E.T. Rietschel, *Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity*. J Endotoxin Res, 2001. **7**(3): p. 167-202.
123. Johannsen, U., *[Experimental studies on the pathogenesis of Coli-enterotoxemia in swine. 4. Effect of lipopolysaccharide endotoxin on weaned piglets following parenteral administration]*. Arch Exp Veterinarmed, 1977. **31**(2): p. 191-202.
124. Hawes, A.S., et al., *In vivo effects of the antiglucocorticoid RU 486 on glucocorticoid and cytokine responses to Escherichia coli endotoxin*. Infect Immun, 1992. **60**(7): p. 2641-7.
125. Galanos, C., et al., *Synthetic and natural Escherichia coli free lipid A express identical endotoxic activities*. Eur J Biochem, 1985. **148**(1): p. 1-5.
126. Liu, M., et al., *Etomidate Mitigates Lipopolysaccharide-Induced CD14 and TREM-1 Expression, NF-kappaB Activation, and Pro-inflammatory Cytokine Production in Rat Macrophages*. Inflammation, 2016. **39**(1): p. 327-335.
127. Kitchens, R.L., R.J. Ulevitch, and R.S. Munford, *Lipopolysaccharide (LPS) partial structures inhibit responses to LPS in a human macrophage cell line without inhibiting LPS uptake by a CD14-mediated pathway*. J Exp Med, 1992. **176**(2): p. 485-94.
128. R-Development-Core-Team, *A language and environment for statistical computing.*, R.D.C. Team, Editor. 2011: Vienna.
129. Hood, D.W., et al., *Use of the complete genome sequence information of Haemophilus influenzae strain Rd to investigate lipopolysaccharide biosynthesis*. Mol Microbiol, 1996. **22**(5): p. 951-65.
130. Moxon, E.R., *Molecular basis of invasive Haemophilus influenzae type b disease*. J Infect Dis, 1992. **165 Suppl 1**: p. S77-81.
131. Glauser, M.P., et al., *Septic shock: pathogenesis*. Lancet, 1991. **338**(8769): p. 732-6.
132. Nikaido, H. and M. Vaara, *Molecular basis of bacterial outer membrane permeability*. Microbiol Rev, 1985. **49**(1): p. 1-32.
133. Ahmad-Nejad, P., et al., *Bacterial CpG-DNA and lipopolysaccharides activate Toll-like receptors at distinct cellular compartments*. Eur J Immunol, 2002. **32**(7): p. 1958-68.
134. Janeway, C.A., Jr. and R. Medzhitov, *Introduction: the role of innate immunity in the adaptive immune response*. Semin Immunol, 1998. **10**(5): p. 349-50.
135. Alonso-Perez, A., et al., *Role of Toll-Like Receptor 4 on Osteoblast Metabolism and Function*. Front Physiol, 2018. **9**: p. 504.
136. Medzhitov, R., *Toll-like receptors and innate immunity*. Nat Rev Immunol, 2001. **1**(2): p. 135-45.

137. Beutler, B., X. Du, and A. Poltorak, *Identification of Toll-like receptor 4 (Tlr4) as the sole conduit for LPS signal transduction: genetic and evolutionary studies*. J Endotoxin Res, 2001. **7**(4): p. 277-80.
138. Cohen, J., *The immunopathogenesis of sepsis*. Nature, 2002. **420**(6917): p. 885-91.
139. Sato, N., et al., *MyD88 but not TRIF is essential for osteoclastogenesis induced by lipopolysaccharide, diacyl lipopeptide, and IL-1alpha*. J Exp Med, 2004. **200**(5): p. 601-11.
140. Opal, S.M. and T. Gluck, *Endotoxin as a drug target*. Crit Care Med, 2003. **31**(1 Suppl): p. S57-64.
141. Medzhitov, R. and C. Janeway, Jr., *Innate immunity*. N Engl J Med, 2000. **343**(5): p. 338-44.
142. Medzhitov, R., P. Preston-Hurlburt, and C.A. Janeway, Jr., *A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity*. Nature, 1997. **388**(6640): p. 394-7.
143. Poltorak, A., et al., *Genetic and physical mapping of the Lps locus: identification of the toll-4 receptor as a candidate gene in the critical region*. Blood Cells Mol Dis, 1998. **24**(3): p. 340-55.
144. Wright, S.D., et al., *CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein*. Science, 1990. **249**(4975): p. 1431-3.
145. Wright, S.D., et al., *Lipopolysaccharide (LPS) binding protein opsonizes LPS-bearing particles for recognition by a novel receptor on macrophages*. J Exp Med, 1989. **170**(4): p. 1231-41.
146. Schumann, R.R., et al., *Lipopolysaccharide binding protein: its role and therapeutical potential in inflammation and sepsis*. Biochem Soc Trans, 1994. **22**(1): p. 80-2.
147. Evans, T.J., *The role of macrophages in septic shock*. Immunobiology, 1996. **195**(4-5): p. 655-9.
148. Calandra, T., et al., *Prognostic values of tumor necrosis factor/cachectin, interleukin-1, interferon-alpha, and interferon-gamma in the serum of patients with septic shock*. Swiss-Dutch J5 Immunoglobulin Study Group. J Infect Dis, 1990. **161**(5): p. 982-7.
149. Calandra, T., et al., *High circulating levels of interleukin-6 in patients with septic shock: evolution during sepsis, prognostic value, and interplay with other cytokines*. The Swiss-Dutch J5 Immunoglobulin Study Group. Am J Med, 1991. **91**(1): p. 23-9.
150. Waage, A. and T. Espevik, *Interleukin 1 potentiates the lethal effect of tumor necrosis factor alpha/cachectin in mice*. J Exp Med, 1988. **167**(6): p. 1987-92.
151. Snyderman, R., *Role for endotoxin and complement in periodontal tissue destruction*. J Dent Res, 1972. **51**(2): p. 356-61.
152. Hausmann, E., *Potential pathways for bone resorption in human periodontal disease*. J Periodontol, 1974. **45**(5): p. 338-43.
153. Dziak, R., E. Hausmann, and Y.W. Chang, *Effects of lipopolysaccharides and prostaglandins on rat bone cell calcium and cyclic AMP*. Arch Oral Biol, 1979. **24**(5): p. 347-53.
154. Meryon, S.D. and A.D. Perris, *Lipopolysaccharide-induced bone resorption is mediated by prostaglandins*. Life Sci, 1981. **28**(9): p. 1061-5.
155. Treves, A.J., et al., *Prostaglandin E2 secretion by subsets of human peripheral blood monocytes*. Immunopharmacology, 1982. **4**(3): p. 267-76.
156. Umez, A., et al., *Appearance of osteoclasts by injections of lipopolysaccharides in rat periodontal tissue*. J Periodontal Res, 1989. **24**(6): p. 378-83.
157. Orcel, P., et al., *Local bone injections of LPS and M-CSF increase bone resorption by different pathways in vivo in rats*. Am J Physiol, 1993. **264**(3 Pt 1): p. E391-7.
158. Lynn, W.A. and D.T. Golenbock, *Lipopolysaccharide antagonists*. Immunol Today, 1992. **13**(7): p. 271-6.
159. Boyce, B.F., et al., *Effects of interleukin-1 on bone turnover in normal mice*. Endocrinology, 1989. **125**(3): p. 1142-50.
160. Abu-Amer, Y., et al., *Lipopolysaccharide-stimulated osteoclastogenesis is mediated by tumor necrosis factor via its P55 receptor*. J Clin Invest, 1997. **100**(6): p. 1557-65.

161. Ferrero, E., et al., *Roles of tumor necrosis factor p55 and p75 receptors in TNF-alpha-induced vascular permeability*. Am J Physiol Cell Physiol, 2001. **281**(4): p. C1173-9.
162. Chiang, C.Y., et al., *Interleukin-1 and tumor necrosis factor activities partially account for calvarial bone resorption induced by local injection of lipopolysaccharide*. Infect Immun, 1999. **67**(8): p. 4231-6.
163. Koide, M., et al., *Osteoclastic bone resorption induced by innate immune responses*. Periodontol 2000, 2010. **54**(1): p. 235-46.
164. Hara, Y., et al., *Histopathological study of the role of CD4- and CD8-positive T cells on bone resorption induced by Escherichia coli endotoxin*. Calcif Tissue Int, 1998. **63**(1): p. 63-6.
165. Suda, K., et al., *Suppression of osteoprotegerin expression by prostaglandin E2 is crucially involved in lipopolysaccharide-induced osteoclast formation*. J Immunol, 2004. **172**(4): p. 2504-10.
166. Clohisy, J.C., et al., *Tumor necrosis factor-alpha mediates polymethylmethacrylate particle-induced NF-kappaB activation in osteoclast precursor cells*. J Orthop Res, 2002. **20**(2): p. 174-81.
167. Engesaeter, L.B., et al., *Antibiotic prophylaxis in total hip arthroplasty: effects of antibiotic prophylaxis systemically and in bone cement on the revision rate of 22,170 primary hip replacements followed 0-14 years in the Norwegian Arthroplasty Register*. Acta Orthop Scand, 2003. **74**(6): p. 644-51.
168. Bi, Y., et al., *Adherent endotoxin mediates biological responses of titanium particles without stimulating their phagocytosis*. J Orthop Res, 2002. **20**(4): p. 696-703.
169. Cho, D.R., et al., *The role of adsorbed endotoxin in particle-induced stimulation of cytokine release*. J Orthop Res, 2002. **20**(4): p. 704-13.
170. Lee, D.H., J.C. Park, and H. Suh, *Synergistic induction of cyclooxygenase-II by bacterial lipopolysaccharide in combination with particles of medical device materials in a murine macrophage cell line J774A.1*. J Biomed Mater Res, 2001. **55**(4): p. 547-53.
171. Brooks, R.A., J.A. Wimhurst, and N. Rushton, *Endotoxin contamination of particles produces misleading inflammatory cytokine responses from macrophages in vitro*. J Bone Joint Surg Br, 2002. **84**(2): p. 295-9.
172. Charlebois, S.J., A.U. Daniels, and R.A. Smith, *Metabolic heat production as a measure of macrophage response to particles from orthopedic implant materials*. J Biomed Mater Res, 2002. **59**(1): p. 166-75.
173. Daniels, A.U., et al., *Macrophage cytokine response to particles and lipopolysaccharide in vitro*. J Biomed Mater Res, 2000. **49**(4): p. 469-78.
174. Skoglund, B., L. Larsson, and P.A. Aspenberg, *Bone-resorptive effects of endotoxin-contaminated high-density polyethylene particles spontaneously eliminated in vivo*. J Bone Joint Surg Br, 2002. **84**(5): p. 767-73.
175. Catelas, I., M.A. Wimmer, and S. Utzschneider, *Polyethylene and metal wear particles: characteristics and biological effects*. Semin Immunopathol, 2011. **33**(3): p. 257-71.
176. Schroder, C., et al., *Characterization of polyethylene wear particle: The impact of methodology*. Acta Biomater, 2013. **9**(12): p. 9485-91.
177. Utzschneider, S., et al., *Inflammatory response against different carbon fiber-reinforced PEEK wear particles compared with UHMWPE in vivo*. Acta Biomater, 2010. **6**(11): p. 4296-304.
178. Ragab, A.A., et al., *Measurement and removal of adherent endotoxin from titanium particles and implant surfaces*. J Orthop Res, 1999. **17**(6): p. 803-9.
179. Cooperstock, M.S., R.P. Tucker, and J.V. Baublis, *Possible pathogenic role of endotoxin in Reye's syndrome*. Lancet, 1975. **1**(7919): p. 1272-4.
180. Inada, K., et al., *Establishment of a new perchloric acid treatment method to allow determination of the total endotoxin content in human plasma by the limulus test and clinical application*. Microbiol Immunol, 1991. **35**(4): p. 303-14.
181. Xing, Z., et al., *Accumulation of LPS by polyethylene particles decreases bone attachment to implants*. J Orthop Res, 2006. **24**(5): p. 959-66.

182. Akisue, T., et al., *The effect of particle wear debris on NFkappaB activation and pro-inflammatory cytokine release in differentiated THP-1 cells*. J Biomed Mater Res, 2002. **59**(3): p. 507-15.
183. Schwab, L.P., et al., *Titanium particles and surface-bound LPS activate different pathways in IC-21 macrophages*. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2006. **79**(1): p. 66-73.
184. Schwab, L.P., et al., *Macrophage response to high number of titanium particles is cytotoxic and COX-2 mediated and it is not affected by the particle's endotoxin content or the cleaning treatment*. J Biomed Mater Res A, 2011. **99**(4): p. 630-7.
185. Paulus, A., et al., *Evaluation of different methods to eliminate adherent endotoxin of polyethylene wear particles*. Wear, 2012. **295**: p. 319-325.
186. Gorbet, M.B. and M.V. Sefton, *Endotoxin: the uninvited guest*. Biomaterials, 2005. **26**(34): p. 6811-7.
187. Gagnon, F., et al., *Endotoxin affinity for provisional restorative resins*. J Prosthodont, 1994. **3**(4): p. 228-36.
188. Parekh, J., et al., *In vitro investigation of friction at the interface between bone and a surgical instrument*. Proc Inst Mech Eng H, 2013. **227**(6): p. 712-8.
189. Volk, R., *Rauheitsmessung Theorie und Praxis*. 1 ed. 2005: Beuth.
190. Elin, R.J., W.B. Lundberg, and P.J. Schmidt, *Evaluation of bacterial contamination in blood processing*. Transfusion, 1975. **15**(3): p. 260-5.
191. Tai, J.Y., et al., *Studies on Limulus amoebocyte lysate II. Purification of the coagulogen and the mechanism of clotting*. J Biol Chem, 1977. **252**(14): p. 4773-6.
192. Lonza. LAL Assay. Available from: (<http://www.lonza.com/products-services/pharma-biotech/endotoxin-detection/endotoxin-detection-assays/endpoint-chromogenic-lal-assay.aspx>).
193. Shanbhag, A.S., et al., *Macrophage/particle interactions: effect of size, composition and surface area*. J Biomed Mater Res, 1994. **28**(1): p. 81-90.
194. Hartmann, E.S., et al., *Factors regulating bone remodeling processes in aseptic implant loosening*. J Orthop Res, 2017. **35**(2): p. 248-257.
195. Nakashima, Y., et al., *Induction of macrophage C-C chemokine expression by titanium alloy and bone cement particles*. J Bone Joint Surg Br, 1999. **81**(1): p. 155-62.
196. Schipper, O.N., et al., *Wear Characteristics of Conventional Ultrahigh-Molecular-Weight Polyethylene Versus Highly Cross-Linked Polyethylene in Total Ankle Arthroplasty*. Foot Ankle Int, 2018: p. 1071100718786501.
197. Gallay, P., et al., *Short time exposure to lipopolysaccharide is sufficient to activate human monocytes*. J Immunol, 1993. **150**(11): p. 5086-93.
198. Trappe, U. and H. Riess, [*Basics in the pathophysiology of sepsis*]. Hamostaseologie, 2005. **25**(2): p. 175-82.
199. Koutouzis, T., et al., *The Role of Chlorhexidine on Endotoxin Penetration to the Implant-Abutment Interface (IAI)*. Clin Implant Dent Relat Res, 2015. **17**(3): p. 476-82.
200. Morra, M., et al., *Adherent endotoxin on dental implant surfaces: a reappraisal*. J Oral Implantol, 2012.
201. Yu, F., et al., *Lipopolysaccharide inhibits or accelerates biomedical titanium corrosion depending on environmental acidity*. Int J Oral Sci, 2015. **7**(3): p. 179-86.
202. Lieder, R., P.H. Petersen, and O.E. Sigurjonsson, *Endotoxins-the invisible companion in biomaterials research*. Tissue Eng Part B Rev, 2013. **19**(5): p. 391-402.
203. Bonsignore, L.A., et al., *Adherent lipopolysaccharide inhibits the osseointegration of orthopedic implants by impairing osteoblast differentiation*. Bone, 2013. **52**(1): p. 93-101.
204. Akbar, M., et al., *Acute inflammatory response to cobalt chromium orthopaedic wear debris in a rodent air-pouch model*. J R Soc Interface, 2012. **9**(74): p. 2109-19.
205. Greenfield, E.M., J. Bechtold, and G. Implant Wear Symposium Biologic Work, *What other biologic and mechanical factors might contribute to osteolysis?* J Am Acad Orthop Surg, 2008. **16 Suppl 1**: p. S56-62.

206. Tatro, J.M., et al., *The balance between endotoxin accumulation and clearance during particle-induced osteolysis in murine calvaria*. J Orthop Res, 2007. **25**(3): p. 361-9.
207. Ding, H., et al., *Comparison of the cytotoxic and inflammatory responses of titanium particles with different methods for endotoxin removal in RAW264.7 macrophages*. J Mater Sci Mater Med, 2012. **23**(4): p. 1055-62.
208. Costa L, B.P., *Mechanisms of crosslinking, oxidative degradation and stabilization of UHMWPE*. UHMWPE Biomaterials Handbook ed. 2009, Burlington: Elsevier Academic Press.
209. Pieske, O., et al., *Titanium alloy pins versus stainless steel pins in external fixation at the wrist: a randomized prospective study*. J Trauma, 2008. **64**(5): p. 1275-80.

8. Abkürzungsverzeichnis

ANOVA	-	Varianzanalyse
BMM	-	Knochenmark – Makrophage
ca.	-	circa
CD 14	-	cluster of differentiation
CNC	-	computerized numerical control
CoCr	-	Cobalt – Chrom
c-src	-	proto – oncogene tyrosine – protein kinase Src
DNA	-	Desoxyribonukleinsäure
DRG	-	diagnose related grouping
E. coli	-	Escherichia coli
EU	-	Endotoxin Units, entspricht ungefähr 0,1 - 0,2 ng
Fa	-	Firma
GM-CSF	-	granulozyten-makrophagen-colony-stimulating-factor
gr: ενδον	-	innen
H. influenzae-	-	hämophilus influenzae
IFN- γ	-	Interferon Gamma
IKK1	-	Inhibitor of nuclear factor kappa – B kinase subunit alpha
IKK2	-	Inhibitor of nuclear factor kappa – B kinase subunit beta
IL – 1	-	Interleukin 1
IL – 6	-	Interleukin 6
IRAK	-	IL1 Rezeptor assoziierte Kinase
KDO	-	Keto – desoxy – octonat
kg	-	Kilogramm
LAL	-	limulus amoebocyte lysate
LBP	-	Lipopolysaccharid binding protein
LD 50	-	Letale Dosis 50 %
LPS	-	Lipopolysaccharid
MAP3K	-	Mitogen aktivierte protein 3 Kinase
MCP 1	-	monocyte chemoattractant protein – 1
M – CSF	-	macrophage colony stimulating factor
MD2	-	Lymphozytenantigen 96
MDO	-	Membrane – derived Oligosaccharide

mg	-	Milligramm
min	-	Minuten
MIP 1	-	macrophage inflammatory protein 1
µm	-	Mikrometer
MyD88	-	myeloid differentiation protein 88
NF – κB	-	nuclear factor kappa – light – chain – enhancer
n.m.	-	nicht messbar
OECD	-	Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung
P. gingivalis	-	Porphyromonas gingivalis
p55	-	Tumornekrose faktor – Rezeptor – Typ 1
p75	-	Tumornekrose faktor – Rezeptor – Typ 2
PAMP's	-	pathogen associated molecular patterns
PE	-	Polyethylen
PEEK	-	Polyetheretherketon
PEMA	-	Polyethylmethacrylat
PMMA	-	Polymethylmethacrylat
PRR	-	pattern recognition receptor
PTFE	-	Polytetrafluorethylen
RANK	-	Receptor Activator of NF – κB
RANKL	-	Receptor Activator of NF – κB Ligand
S. typh.	-	Salmonella typhimurium
sec.	-	Sekunde
TEP	-	Totalendoprothese
Ti	-	Titan
TKU	-	Bezeichnung des Tasters der Fa. Jenoptik
TLR	-	Toll – Like – Rezeptor
TNF – α	-	Tumor Nekrose Faktor Alpha
TRAF6	-	TNF Rezeptor Assoziierter Faktor 6
UHMWPE	-	Ultrahochmolekulargewichtiges Polyethylen
XIX	-	römisch neunzehn
XPE	-	Crosslinked – Polyethylen

9. **Abbildungsverzeichnis:**

Abbildung 1: Prothese nach Gluck 1890

Abbildung 2: Femurkopfprothese nach Judet

Abbildung 3: Insall-Burstein-Kniegelenk

Abbildung 4: Kurzschaftprothese Typ Metha

Abbildung 5: drei verschiedene femorale Komponenten einer Hüftprothese

Abbildung 6: Querschnitt durch 2 aktuelle Polyethylen – Liner einer Hüftprothese mit glatter Oberfläche

Abbildung 7: Formen des Abriebs

Abbildung 8: Abrieb-induzierte Entzündungskaskade

Abbildung 9: Schematische Darstellung der Zellwand gramnegativer Bakterien

Abbildung 10: Ähnlichkeit von Lipid – A anhand zweier Beispiele

Abbildung 11: die äußere Kernregion von Endotoxin, hier am Beispiel von E. Coli

Abbildung 12: das O-Antigen mit seiner repetitiven Struktur

Abbildung 13: Aktivierungskaskade der inflammatorischen Immunantwort auf Endotoxin über TLR 4

Abbildung 14: Die Differenzierung einer Progenitorzelle zum aktivierten Osteoklasten

Abbildung 15: Der direkte Einfluss von LPS auf Osteoblasten und Osteoklasten

Abbildung 16: Werkstoffe in ihrer matten Ausfertigung

Abbildung 17: 10fach Rührplatte beheizbar IKAMAG 10 RT Power

Abbildung 18: Verschlusskappen Schema und nach Fertigstellung mit angeklebtem Testwürfel

Abbildung 19: Ablauf des LAL-Assay als Übersicht der Firma Lonza

Abbildung 20: Adhärenz von Endotoxin an PMMA

Abbildung 21: Adhärenz von Endotoxin an Polyetheretherketon

Abbildung 22: Adhärenz von Endotoxin an Polyethylen

Abbildung 23: Adhärenz von Endotoxin an Crosslinked – Polyethylen

Abbildung 24: Adhärenz von Endotoxin an Instrumenten – Stahl

Abbildung 25: Adhärenz von Endotoxin an Implantat - Stahl

Abbildung 26: Adhärenz von Endotoxin an Titan

Abbildung 27: alle getesteten Materialien in Abhängigkeit von der Rauheit

Abbildung 28: Unterschied der Rauheit der Materialien

Abbildung 29: Unterschied der Messwerte zwischen der Rauheit eines Materials

Abbildung 30: Steigung der Endotoxinbindung in Abhängigkeit der Rauheit eines Materials

10. Danksagung

Jeder Promovierende gibt die Erklärung ab, die Arbeit selbstständig und ohne Hilfe angefertigt zu haben.

Soweit das für die Arbeit und den wissenschaftlichen Teil zutreffen mag, so wenig trifft das für die persönliche Unterstützung zu, die ich erfahren durfte.

Zunächst möchte ich mich bei Ordinarius Prof. Dr. med. Dipl. Ing. Volkmar Jansson bedanken. Das von ihm verantwortete Biomechanik-Labor ermöglichte durch ausgezeichnete Infrastruktur eine zügige Bearbeitung der Versuche.

Prof. Dr. med. Sandra Utzschneider, deren umfassendes Wissen im Bereich der Materialforschung Synergien und Kräfte mobilisieren konnte, ohne die diese Arbeit nicht mit Erfolg abgeschlossen werden hätte können, gebührt ebenfalls ein riesiger Dank. Besonders hervorheben möchte ich, dass Frau Prof. Dr. med. Utzschneider immer ein offenes Ohr für die kleineren und größeren Anliegen hatte, und in kürzester Zeit Rückmeldung zu den Fortschritten der Arbeit gab.

In tiefster Dankbarkeit gesondert erwähnen möchte ich meinen Mitbetreuer Dr. med. Alexander Paulus, der nicht nur durch seine fachliche Kompetenz, sondern auch durch seine organisatorischen Fähigkeiten für komplikationslose Versuchsreihen gesorgt hat. Ihm ist es auf dienstlicher und auch persönlicher Ebene zu verdanken, dass die Arbeit initiiert und abgeschlossen werden konnte.

Danken will ich den Firmen Aesulap und Lonza Verviers, deren Material und Testverfahren auf höchstem Niveau allen Ansprüchen mehr als gerecht geworden sind.

Doch ohne die Unterstützung meiner Frau, der Geduld meiner Kinder, und auch dem Beitrag meiner Eltern wäre diese Arbeit nicht fertigzustellen gewesen. Dafür möchte ich Ihnen zuletzt ein herzliches Dankeschön aussprechen.

11. Eidesstattliche Versicherung

Brosseder, Simon

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

Erstellung eines Modells zur Messung des
Endotoxin-Adhärenz-Verhaltens diverser Biomaterialien
in Abhängigkeit von der Rauheit ihrer Oberfläche

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Schliersee, 01.02.2020

Simon Brosseder