

**AUS DER KLINIK UND POLIKLINIK FÜR
DERMATOLOGIE UND ALLERGOLOGIE
DER LUDWIG-MAXIMILIANS-
UNIVERSITÄT MÜNCHEN**

Vorstand: Prof. Dr. med. Lars French

Personenbezogene Risikofaktoren für eine gesteigerte
Entzündungsantwort bei Endoprothetik:
Untersuchung von Zytokinpolymorphismen

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

Vorgelegt

von Diana Maria Lill (geb. Wittmann)

aus München

2020

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Peter Thomas

Mitberichterstatter: Priv.Doz. Dr. Bernd Wegener

Priv.Doz. Dr. Hermann Anetzberger

Mitbetreuung durch den

promovierten Mitarbeiter: Dr. rer. hum. biol. Burkhard Summer

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 12.11.2020

1	Einleitung	5
1.1	Endoprothetik	5
1.2	Implantat-Allergie	6
1.3	Abriebpartikel	9
1.4	Zytokine	11
1.5	Polymorphismus	12
2	Ziel der Arbeit	14
3	Material und Methoden	15
3.1	Materialien	15
3.1.1	Reagenzien und Firmen	15
3.1.2	Geräte und Firmen	17
3.1.3	Verbrauchsmaterialien und Firmen	17
3.1.4	Puffer und Lösungen	18
3.2	Blutspender/ Ein- und Ausschlusskriterien	18
3.3	DNA-Isolierung	20
3.3.1	Konzentrationsbestimmung der DNA	21
3.3.2	Ethanol-fällung	21
3.4	Genotypisierung	21
3.4.1	Untersuchte Polymorphismen	21
3.4.2	Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)	22
3.4.3	Restriktionsverdau	24
3.4.4	Agarosegelelektrophorese	25
3.5	Hintergrundinformation zu den Patienten	27
3.5.1	Fragebogen-gestützte Anamnese	27
3.5.2	Allergiediagnostik	27
3.6	Statistik	29
4	Ergebnisse	30
4.1	Charakteristika der Studienpopulation	30
4.2	Verteilung der Allelhäufigkeit in der Studienpopulation	36
4.2.1	Allelhäufigkeit des IL-1B 3954 Polymorphismus mit Subgruppen-Analyse	37
4.2.2	Allelhäufigkeit des IL-1B 31 Polymorphismus mit Subgruppen-Analyse	37
4.2.3	Allelhäufigkeit des IL-1B 511 Polymorphismus mit Subgruppen-Analyse	38
4.2.4	Allelhäufigkeit des IL-1RN Intron 2 VNTR Polymorphismus mit Subgruppen-Analyse	39
5	Diskussion	43
5.1	Heterogenität des Patientenguts	43
5.2	Zytokin (IL-1) Polymorphismus	44
5.3	Polymorphismen in der Literatur und Vergleich mit unseren Ergebnissen (in Assoziation mit diversen Erkrankungen)	46
5.3.1	IL-1B-3954 (rs1143634)	46
5.3.2	IL-1B-31 (rs1143627) und IL-1B-511 (rs16944)	47
5.3.3	IL-1RN Intron 2 VNTR (rs2234663)	48
5.4	Endoprothesenunverträglichkeit und Metallallergie	50
5.4.1	ECT	51
5.4.2	LTT	52
5.5	Endoprothesenunverträglichkeit und Atopie	54
5.6	Endoprothesenunverträglichkeit und Beschwerden mit Zahnmaterial	55
5.7	Limitierungen der Arbeit	55

6	Zusammenfassung	57
6.1	Ergebniszusammenfassung:	57
6.1.1	IL-1-Rezeptorantagonist (IL-1RN Intron 2 VNTR).....	57
6.1.2	IL-1B-3954 (rs1143634), IL-1B-31 (rs1143627) und IL-1B-511 (rs16944).....	58
6.1.3	Endoprothesenunverträglichkeit und Metallallergie sowie Atopie	58
6.1.4	Endoprothesenunverträglichkeit und Beschwerden mit Zahnmaterial.....	58
6.2	Ausblick	59
7	Tabellenverzeichnis	60
8	Abbildungsverzeichnis	61
9	Literaturverzeichnis	62
10	Anhang	69
10.1	Tabellen.....	69
10.2	Fragebogen Metallverträglichkeit.....	71
11	Danksagung	73

1 Einleitung

Vor etwa 130 Jahren war der Chirurg Themistocles Gluck in Berlin mit seiner visionären Idee des künstlichen Gelenkersatzes gescheitert. Er entwarf aus Elfenbein angefertigte künstliche Gelenke, die er über „Gips“ fixiert Patienten mit Infekt-(Tuberkulose-)zerstörten Kniegelenken einsetzte¹⁴. Damit erntete er nicht nur den Spott seiner Fachkollegen, sondern wurde auch von seinem damaligen Direktor Prof. Dr. Ernst von Bergmann 1891 zu einer öffentlichen „Ehrenderklärung“ gegen alles Neue an seinen Ideen gezwungen wie auch zum Ausscheiden aus der Chirurgischen Universitätsklinik der Charité. Innerhalb von nur 130 Jahren hat sich der Einsatz von Implantaten am Menschen enorm weiterentwickelt. Dies umfasst neben Materialien wie Polyethylen, Silikon vor allem Metallimplantate. Neben Stents, Herzschrittmachern und dentalen Implantaten sind vor allem Osteosynthesematerialien und Endoprothesen zu nennen. Dies hat zu einer enormen Zunahme der Lebensqualität geführt – ebenso wie zu wachsenden Ansprüchen an „Langlebigkeit“ und Bioverträglichkeit der Implantate. Dementsprechend wird über materialtechnische Aspekte hinaus zunehmend die Reaktion des Organismus gegenüber Implantatmaterialien erforscht.

1.1 Endoprothetik

Die Zahl der neu implantierten Endoprothesen in Deutschland steigt stetig. Im Jahr 2005 waren es ca. 250 Hüftendoprothesen pro 100.000 Einwohner, 2013 bereits 283 pro 100.000 Einwohner. Ebenso steigen die Zahlen der Knieendoprothesen. 2005 waren es ca. 160 Knieendoprothesen pro 100.000 Einwohner. Im Jahr 2013 wurden in Deutschland bereits 190 Knieendoprothesen pro 100.000 Einwohner implantiert³. Als häufigster Grund für die steigende Endoprothesenzahl wird die immer größer werdende Zahl der Gelenksarthrosen angegeben, welche durch das hohe Alter der Bevölkerung und die vermehrten Risikofaktoren wie Übergewicht, Rauchen, Verletzungen und verminderte Bewegung bedingt ist³. Es stiegen nicht nur die Zahlen der Erstimplantate, sondern auch die der Revisionen. Dies lässt sich nur teilweise durch eine großzügige Indikationsstellung und durch den demographischen Wandel erklären. Der demographische Wandel trägt insofern zu erhöhten Revisionzahlen bei, da die Menschen immer älter

werden und sie somit die Standzeit der Implantate überleben. Aber hierdurch lässt sich nicht vollständig die große Zahl an Revisionen erklären⁷. 2008 wurden 22.631 Hüftendoprothesen⁷² und 10.387 Knieendoprothesen⁷³ revidiert. 2009 waren es bereits 30.000 Revisionen der Hüftimplantate und 23.000 Knieimplantate⁷. Im jährlichen Australischen Nationalen Endoprothesen-Register von 2012 wurde über 10835 Hüftimplantatwechsel und 13612 Knieendoprothesenwechsel berichtet². Die häufigsten Gründe für den Wechsel waren Lockerungen (30,1%/34%) und Infektionen (14,8%/16,9%) der Primärprothese². 2011 wurde in diesem Register zum ersten Mal die Kategorie Metallsensitivität als Revisionsgrund angegeben. In diesem Jahr wurden 623 Hüftimplantatrevisionen aufgrund einer Metallsensitivität angegeben, das sind 5,7% von den im Jahr 2011 revidierten Hüften². Bei 133 der 13612 revidierten Knieendoprothesen wird von einer Metallsensitivität berichtet². Somit spielt womöglich nicht nur der demographische Wandel mit einer immer älter werdenden Bevölkerung eine Rolle für die steigenden Revisionszahlen, sondern auch eine Vielzahl unterschiedlicher Endoprothesenmodelle, die teils gesteigerte Immunantwort auf die Metalle hervorrufen können.

Häufig werden Metall-Metall-Gleitpaarungen, Keramik- und Metall-Kunststoff-Paarungen verwendet^{54,104}. Die aktuellen Metallimplantate sind zum größten Teil aus rostfreiem Stahl sowie Titanlegierungen im Falle von Osteosynthesen oder einer CoCrMo-Legierung⁹⁷ und Titanlegierung im Falle einer Endoprothetik. Der Stahl besteht zu ca. 16-18% aus Chrom, zu 10-14% aus Nickel und aus diversen anderen Metallen¹⁰. Auch Titanimplantate können zum Teil Nickel enthalten. Dies ist gewöhnlich aber in extrem niedriger Konzentration – außer bei Nitinol, einer Nickel-Titan-Legierung mit etwa 50% Nickelanteil. Die in den Körper eingebrachten Metallimplantate unterliegen einer Biokorrosion. Diese Korrosion setzt eine signifikante Anzahl an Metallionen frei¹⁰. Zu den Mechanismen gehören „galvanische“ Effekte bei Kombination unterschiedlicher Metalle, pH-Einflüsse und auch direkte Effekte adhärerender Zellen. Bei Metallgleitpaarungen werden zudem Abriebpartikel freigesetzt³⁸. Zum Beispiel können aus der Edelstahllegierung Eisen, Chrom und Nickel freigesetzt werden¹⁰. Diese Metallionen verbleiben in dem umgebenden Gewebe oder sie können in das Blutsystem abgegeben werden und so zu anderen Organen transportiert werden^{10,57,105}. Die Abriebpartikel und Metallionen stimulieren in Patienten mit Endoprothesen die periimplantäre Osteolyse^{10,23}.

1.2 Implantat-Allergie

Bereits in den 60er Jahren erschienen Berichte über Patienten mit Implantatmaterial- Beschwerden, bei denen eine Allergie gegen Implantatmetalle beschrieben wurden^{8,28}. Eine kutane Metallkontaktallergie auf Nickel haben ca. 13,1% der Bevölkerung, bei Frauen ist die Rate deutlich höher mit 20,4% (Männer 5,8%). Etwa 3% haben eine Kontaktallergie gegenüber Kobalt und 1% gegenüber Chrom⁸⁴. Die kutane Metallkontaktallergie ist eine Typ IV Allergie nach Coombs und Gell. Dabei handelt es sich um eine Spättyp-Immunantwort des erworbenen Immunsystems ausgehend von den dendritischen Zellen, B- und vor allem T- Lymphozyten¹⁰. Die Metallionen bilden Haptene oder Hapten-ähnliche Komplexe und werden so im Proteinkontext vom Immunsystem als Antigen erkannt. Dies kann zu einer Sensibilisierungs- und bei erneutem Antigenkontakt zu einer Hypersensitivitäts-Reaktion führen¹⁰. Momentan werden diese Reaktionen des adaptiven Immunsystems auf Metallionen vornehmlich als Typ IV (Spättyp-) Reaktion angesehen¹⁰.

Häufiger sind allerdings durch Metallionen und Metallpartikel hervorgerufene Reaktionen der angeborenen Immunantwort. Hier stehen Monozyten-/Makrophagen zwar im Vordergrund - eine Vielzahl von Zellen des periimplantären Gewebes ist aber miteinbezogen. Hierzu wird unter 1.3 ergänzend kommentiert.

Bei Patienten mit Verdacht auf eine Implantat-Allergie müssen vorab die üblichen Ursachen der Beschwerden wie Infektion, mechanische Ursachen und Lockerung ausgeschlossen werden.

Viele der Patienten klagen über Schmerzen und Bewegungseinschränkung⁹⁹. Weiterhin wird über Schwellungen, Rötungen, Ekzeme und Ergüsse ohne Infekt Nachweis berichtet^{93,99}. Diese Beschwerden und weitere, wie zum Beispiel gestörte Wund- oder Frakturheilung und Implantatlockerung, können Hinweis auf eine Implantatallergie sein, sofern keine anderen Ursachen für die Beschwerden gefunden werden¹⁰¹.

Die Diagnose Implantatallergie ist eine Ausschlussdiagnose und wird durch interdisziplinäre Zusammenarbeit gestellt. Es müssen erst, wie oben erwähnt, alle klassischen Gründe für die Beschwerden ausgeschlossen werden, insbesondere ein „Low-grade“ Infekt. Danach sollte eine ausführliche allergologische Anamnese, ein Epikutantest und ggf. eine periimplantäre Histopathologie durchgeführt werden¹⁰¹. Zusätzlich kann noch ein Lymphozytentransformationstest (LTT) gemacht werden¹⁰¹. Dieser Test liefert zusätzliche Informationen über eine T-zellulär vermittelte Metallsensibilisierung, wird momentan aber eher als wissenschaftlicher Ansatz durchgeführt¹⁰⁰.

Der Epikutantest (ECT) wird mit der aktuellen Standardreihe (welche unter anderem Nickel, Kobalt und Chrom enthält) und der Implantatmetallreihe durchgeführt. Wenn Knochenzement verwendet wurde, sollte auch auf Knochenzementkomponenten getestet werden⁹⁹. Ein positiver Epikutantest kann nur ein Hinweis auf eine Implantatallergie sein und ist kein Beweis. Das Ergebnis des Epikutantests ist nur teilweise auf das periimplantäre Gewebe übertragbar und muss immer zusammen mit dem klinischen Bild interpretiert werden. Es gibt Studien, in denen gezeigt wurde, dass nur wenige Patienten mit einer kutanen Metallallergie Komplikationen mit ihren, Metall enthaltenden, Endoprothesen haben^{95,96,102}.

Histopathologisch wurden im Rahmen einer Konsensusklassifikation zu dem histologischen Bild der Neosynovialis/ periprothetischen Membran vier Muster bei Prothesenlockerung beschrieben^{53,68}.

- Typ 1 Abrieb-Typ, mehrheitlich aus Makrophagen und multinukleären Riesenzellen bestehendes Infiltrat.

Wenn zu diesem Bild eine ausgeprägte lymphozytäre Infiltration der Membran zu finden ist, mit einem diffusen perivaskulären Infiltrationsmuster und follikelartiger Anordnung, dann ist eine allergische Typ IV Reaktion nach Coombs und Gell auf Implantatmaterialien wahrscheinlich^{53,108}. Die funktionelle Bedeutung wird allerdings noch diskutiert⁹⁶.

- Typ 2 Infektions-Typ, hier ist ein mehr oder weniger dichtes Neutrophileninfiltrat zu sehen und es kann zwischen einer Minimalinfektion und einer ausgeprägten Infektion unterschieden werden⁵³.
- Typ 3 Misch-Typ, dieser Typ stellt eine Kombination zwischen Typ 1 und 2 dar⁵³.
- Typ 4 Indifferenz-Typ, es zeigt sich weder ein Typ 1 noch ein Typ 2 Muster, man sieht ein zellarmes kollagenreiches Bindegewebe⁵³. Auch bei diesem sogenannten Indifferenz Typ wurde eine Unterform mit lymphozytären Infiltraten als mögliche „Allergiev variante“ beschrieben⁵².

Im Rahmen der Implantatallergiediagnostik wird das durch eine Arthroskopie oder bei der Revisionsoperation gewonnene periimplantäre Gewebe nach der eben genannten Klassifikation eingeteilt. Wenn der Pathologe eine Lymphozyteninfiltration sieht, dann besteht die Möglichkeit einer Implantatallergie. Allerdings wird diese Diagnose immer individuell und in Zusammenschau aller diagnostischen Schritte und aller Befunde gestellt^{96,101}. Beispielsweise kann der Epikutantest noch ergänzende Hinweise auf das auslösende Allergen der Metall-Legierung oder im Knochenzement geben.

Als ergänzende Methode kann der LTT eingesetzt werden, wenn die Einschränkung des eher wissenschaftlichen Tests und die Relevanzbeurteilung beachtet werden. Der LTT wird zum Nachweis einer Typ IV-Sensibilisierung verwendet. Nach einer In-Vitro-Antigenzugabe in die Zellkultur zeigt die T-Zellproliferation an, ob die Blutlymphozyten des Spenders das Antigen „wiedererkennen“¹⁰⁰. Ein positives Ergebnis spricht für eine Sensibilisierung, macht aber keine Aussage darüber, ob dieses Antigen eine klinisch manifeste Allergie auslöst¹. Der LTT untersucht im Gegensatz zu dem Epikutantest die systemische Sensibilisierung. Er liefert aber nur eine ergänzende Information und sollte nicht überbewertet werden. Dieser Test kann auch nur in Zusammenschau mit der Klinik richtig interpretiert werden¹.

1.3 Abriebpartikel

Abriebpartikel entstehen bei allen Arten von Gelenkendoprothesen durch Abrasion an den Gelenkpartnern⁹⁰. Die Größe, Form, chemische Zusammensetzung und das Volumen der entstanden Partikel ist verantwortlich für die Reaktion der Makrophagen^{15,90}. Makrophagen phagozytieren diese Abriebpartikel und lösen somit eine Fremdkörperreaktion und eine Immunreaktion aus. Dies führt dazu, dass die Makrophagen inflammatorische Zytokine ausschütten, z.B. IL-1- β , IL-6 und TNF- α . Diese Zytokine lösen nicht nur eine Entzündung aus, sondern stimulieren auch die Osteoklastenvorstufen und steigern somit die periprothetische Osteolyse^{15,39,90}.

Wie stark die Reaktion ist, hängt von dem Prothesenmaterial ab. Es gibt „soft-on-hard“ Endoprothesen, dazu gehören die am häufigsten verwendeten Metall-Polyethylen Gleitpaarungen oder Keramik-Polyethylen, dann gibt es „hard-on-hard“ Implantate, wie Metall-Metall- bzw. Keramik-Keramik-Paarungen, die weniger Abriebpartikel erzeugen als Metall-Polyethylen^{44,104}. Metall-Metall-Paarungen bestehen, wie oben schon teilweise beschrieben, aus Cobalt-Chrom-Molybdän Legierungen¹⁵, vor allem bei der Hüftendoprothetik. Eine Metall-Metall-Paarung am Knie ist eine Rarität. Insgesamt sind bestimmte Modelle oder Metall-Metall-Paarungen an der Hüfte wegen erhöhter Metallfreisetzung, entsprechend erhöhter Versagensrate und lokalen Unverträglichkeitsreaktionen bis hin zu „Pseudotumoren“ in Verruf geraten⁸².

Es gibt verschiedene Studien über die Reaktionen gegenüber den einzelnen Partikelarten. Ingham et al. untersuchten 2005 die biologische Antwort auf Polyethylen-Abriebpartikel und kommen zu dem Schluss, dass die biologische Antwort auf die Polyethylen-Partikel eine Schlüsselrolle in der Osteolyse spielt⁴⁴. Wenn die Makrophagen durch die Polyethylen-Partikel stimuliert werden, gibt es aus damaliger Sicht vier verschiedene Wege, wie sie zu der Osteolyse

beitragen können⁴⁴: 1. Stimulierte Makrophagen, ein Milieu von inflammatorischen Zytokinen und chemotaktischen Faktoren, führen zu einer Rekrutierung von hämatopoetischen Osteoklastenvorläufer Zellen aus dem Gefäßsystem und somit zur verstärkten Osteolyse. 2. Stimulierte Makrophagen schütten TNF- α / IL-1 aus, was zu erhöhter M-CSF und RANKL Produktion der Osteoblasten führt und somit die Differenzierung von Osteoklasten-Vorläufern in reife Osteoklasten verstärkt. 3. Die vermehrte TNF- α Ausschüttung aus den stimulierten Makrophagen kann die Differenzierung von Osteoklasten-Vorläufern in Gegenwart von RANKL verstärken. 4. TNF- α kann reife Osteoklasten aktivieren, um Knochen zu resorbieren. Es ist möglich, dass alle diese Mechanismen in vivo relevant sind für eine gesteigerte Osteolyse nach Aktivierung der Makrophagen⁴⁴.

Auch Catelas et al. zeigten 2011, dass Polyethylenpartikel die Zytokinausschüttung der Makrophagen fördern und somit zu einer periprothetischen Osteolyse führen¹⁵.

Cobalt-Chrom-Molybdän-Partikel lösen auch eine unspezifische durch Makrophagen vermittelte Immunreaktion aus, ähnlich wie die Polyethylenpartikel. Samelko et al. postulierten 2016, dass Co-Cr-Partikel als „danger signals“ auch zu einer Inflammation-Aktivierung führen⁸¹. Zusätzlich aber auch eine spezifische durch T-Lymphozyten vermittelte Typ IV Hypersensitivitätsreaktion¹⁵ (wie oben bereits erwähnt) bei schon sensibilisierten (Metallallergikern) Patienten auslösen.

Sterner et al. berichteten 2004, dass Material und Partikelgröße eine entscheidende Rolle spielen. In der Studie wurde gezeigt, dass durch kleinste Titanpartikel (0,2 μ m) die Makrophagen deutlich weniger TNF α ausschütten als bei größeren Partikeln. Weiterhin zeigt diese Studie, dass Keramikpartikel eine geringere biologische Aktivität besitzen als Titanpartikel. Bei direktem Vergleich der beiden Partikelarten mit gleicher Konzentration und Größe nahm die TNF- α Sekretion bei Titanpartikel deutlich stärker zu als bei Keramikpartikeln⁹⁰. Von Klinder et al. wurde aber 2018 berichtet, dass Keramikpartikel bei PBMC (periphere Blut-mononukleäre Zellen, einschließlich T-Lymphozyten) und Osteoblasten ebenfalls deutliche proentzündliche Effekte haben⁴⁹. Jacobi-Gresser et al. zeigten, dass bei Stimulation mit Titanpartikeln die TNF α und IL-1- β Sekretion von PBMC von Patienten mit Dental-Implantatlockerung deutlich höher ist als in der Gruppe ohne Lockerung⁴⁶. Unter anderem ergab diese Studie auch, dass die untersuchten Polymorphismen von IL-1 α , IL-1 β , IL-1R und TNF- α eine höhere Prävalenz in der Gruppe mit Implantatversagen haben⁴⁶. Eine Metaanalyse zu „IL-1 Polymorphismen“ und Dentalimplantatversagen zeigte allerdings, dass es auch Studien mit gegenteiligem Ergebnis gibt¹¹².

1.4 Zytokine

Zytokine sind hormonähnliche Botenstoffe, die von Leukozyten und einer Reihe anderer Zellen produziert werden. Diese heterogene Gruppe von Proteinen hat eine große Anzahl gemeinsamer Charakteristika. Es sind sekretorische Proteine mit einem kleinen Molekulargewicht, sie haben einen großen Effekt auf das Immunsystem und die Regulierung der Entzündungsprozesse⁶, aber auch auf diverse andere Prozesse, z.B. Gewebereparatur, Zellsterben und vieles mehr⁶². Es gibt verschiedene sich ergänzende Klassifikationen der Zytokine. Dies betrifft die Beschreibung der Funktion, molekularbiologische Klassifikation und die Zuordnung zu den Zytokinrezeptoren⁶². In der funktionellen Zytokinklassifikation werden Interferone, Tumornekrosefaktoren, Wachstumsfaktoren und Interleukine unterschieden⁶².

In der vorliegenden Arbeit wurden Interleukinpolymorphismen untersucht, insbesondere Interleukin 1 β (IL-1 β) und Interleukin 1 β -Rezeptor Antagonist (IL-1Ra). Interleukine (IL) gehören zu den proinflammatorischen Zytokinen, die eine wichtige Rolle bei Entzündungsreaktionen spielen. Es gibt drei Mitglieder der Interleukin 1 Familie: IL-1 α , IL-1 β und den IL-1-Rezeptor Antagonist (IL-1Ra). Aus einem Vorläuferprotein wird mittels einer Protease IL-1 α und IL-1 β abgespaltet. Jedes der beiden IL hat ein Molekulargewicht von 17kD, der IL-1Ra entwickelt sich aus einem Signalpeptid²². Die IL binden an den IL-Rezeptor (IL-1R), von dem es zwei verschiedene Typen gibt. IL-1R I ist ein 80 kD schweres Transmembranprotein, an das sich IL-1 α und β binden und welches der eigentliche Initiator der Signaltransduktion ist. Der zweite Rezeptor IL-1R II ist ein 68 kD schweres Protein, an dem zwar IL-1 β binden kann, das aber keinen Effekt auf die Signaltransduktion hat¹⁷.

IL-1 β wird hauptsächlich in Monozyten gebildet. Verantwortlich für die Aktivierung von IL-1 β ist das Inflammasom, ein intrazellulärer Multiproteinkomplex, der über verschiedene Bindungsstellen verfügt⁴¹. Das Inflammasom wird durch Pathogen-assoziierte molekulare Muster (PAMPs), das sind Oberflächenstrukturen von Mikroorganismen, oder durch Danger-assoziierte molekulare Muster (DAMPs), die z.B. bei Zelltod oder eben auch bei Prothesenabrieb entstehen, aktiviert. Dieses aktivierte Inflammasom aktiviert die Caspase 1, die wiederum aus dem inaktiven Pro-IL-1 β das aktive IL-1 β macht^{33,41,65}. Das aktive IL-1 β kann nun die Zelle verlassen, an seine Rezeptoren binden und dort weitere Mediatoren für die Entzündungsreaktionen aktivieren sowie seine inflammatorische Wirkung ausüben¹⁴. Des Weiteren ist IL-1 β ein pro-Osteoklastenzytokin und somit kann es bei Fehlregulation zum Knochenabbau beitragen⁴².

1.5 Polymorphismus

Ein Polymorphismus ist definiert als an einem Genlocus vorkommende Variationen, die in einer Population auftreten. Diese Genvariationen müssen eine Prävalenz von mehr als 1% in der Population haben, sonst spricht man von einer Mutation¹⁰⁷. Es gibt drei Arten von Sequenzvariationen. Einzelnukleotidpolymorphismus (Single Nucleotide Polymorphism, SNP); hier sind einzelne Nukleotide ausgetauscht. Insertion- und Deletionspolymorphismus; dabei handelt es sich um den Einbau oder Verlust von mindestens einem Nukleotid aus dem DNA-Strang. Minisatellitensequenzen oder auch „variabel number of tandem repeats“ (VNTR); dieser Polymorphismus besteht aus einer unterschiedlichen Anzahl sich wiederholender Basenmotive¹⁰⁷. Die Polymorphismen können auf dem kodierenden oder nicht kodierenden Teil des Genoms liegen¹⁰⁷. Sobald sie auf dem kodierenden Teil des Genoms liegen, sind es funktionelle Polymorphismen. Das heißt, in Abhängigkeit von der Lage und Art des Polymorphismus verändert sich die Expressionsstärke des Proteins, oder es ändert sich die Molekularstruktur und es kommt somit zum teilweisen oder vollständigen Funktionsverlust oder zur Überproduktion des Proteins^{79,107}.

Polymorphismen, die im nicht kodierenden Teil der DNA liegen, sind demnach nicht funktionelle Polymorphismen, da es zu keiner Translation und keiner Proteinexpression kommt.

Es gibt diverse Studien, in denen die Zusammenhänge zwischen IL-1-Polymorphismen und Erkrankungen untersucht wurden. Vorwiegend ist der IL-1-Polymorphismus mit chronisch entzündlichen Erkrankungen assoziiert. So zeigten Anderson et al 2011, dass unter anderem ein Zusammenhang zwischen einem IL-1-Polymorphismus und Colitis ulcerosa besteht⁵. Des Weiteren wurden in verschiedenen Studien Zusammenhänge zwischen IL-1-Polymorphismen und Osteoarthritis in der Hüfte und im Knie beschrieben^{63,66}. Einige Studien geben Hinweise auf Korrelationen zwischen Mutationen auf dem IL-1-Gen und chronischer Parodontitis. Signifikant ist hier insbesondere der Unterschied in der kaukasischen Bevölkerung²⁰. Auch Autoimmunerkrankungen wie Morbus Basedow werden in Zusammenhang mit Polymorphismen der Interleukin-1 Familie gebracht⁶⁰.

Aber nicht nur chronisch entzündliche Erkrankungen stehen im Verdacht mit Mutationen auf dem IL-1-Gen assoziiert zu sein. In einigen Studien wurde gezeigt, dass diese Polymorphismen in Verbindung z.B. mit erhöhtem Lungenkrebs-Risiko⁵⁸, erhöhtem Risiko für Magenkarzinom¹⁰⁶ und Barrettkarzinom⁴⁵ stehen.

Der IL-1-Polymorphismus wurde auch mit Zahnimplantatversagen in Verbindung gebracht. Es gibt noch keine schlüssigen Hinweise, dass Zahnimplantatversagen mit einem IL-1-Polymorphismus korreliert, aber es gibt einen möglichen Zusammenhang zwischen einem IL-1-Genotypen und einer Periimplantitis²¹, die dem Implantatversagen vorausgeht. Eine Meta-Analyse berichtet, dass die Kombination von zwei IL-1-Genotypen mit dem Risiko eines Zahnimplantatversagens oder Lockerung assoziiert ist⁵⁹.

Ein systematisches Review von Del Buono et al. 2012 kommt zu dem Schluss, dass es verschiedene Gen-Mechanismen gibt, die zu aseptischer Lockerung von Hüftimplantaten führen¹⁹.

Die Gene der drei homologen Proteine des Interleukin1, IL-1 α , IL-1 β und IL-1 Rezeptorantagonist (IL-1RN) liegen auf dem langen Arm des Chromosoms 2, im Bereich von 2q12-q21⁷⁰. IL-1B-3954 (rs1143634) liegt auf dem Exon 5 des Chromosoms 2. In-vitro-Studien haben gezeigt, dass das Allel T eine signifikante Hochregulierung der IL-1 β Produktion mit sich bringt⁷⁷. Der IL-1B-31 (rs1143627) Polymorphismus liegt in der Region der TATA BOX des IL-1B Promotors in starker genetischer Kopplung („linkage disequilibrium“) zu IL-1B-511 (rs16944) und verändert dadurch die IL-1 β Produktion²⁶.

2 Ziel der Arbeit

Seit Jahren wird an der Universitätsklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München eine Spezialsprechstunde für Patienten mit Verdacht auf Implantat-Unverträglichkeit/ -Allergie betrieben. Es sind größtenteils Patienten mit komplikationsbehafteter Endoprothetik, die von den betreuenden Orthopäden/Chirurgen nach Ausschluss „konventioneller“ Beschwerdeursachen (wie Fehlstellung, „Impingement“, Infekt) zur erweiterten allergologischen Diagnostik vorgestellt werden. Somit ergab sich die Möglichkeit, diese Patienten einem Kollektiv beschwerdefreier Endoprothesenträger gegenüberzustellen und folgende Fragen zu beantworten:

1. Gibt es eine Korrelation zwischen Polymorphismen des IL-1B-Gens (IL-1beta-3954, IL-1beta-31, IL1-beta-511, IL-1RN) und der aseptischen Implantatunverträglichkeit? Untersucht wurden hier speziell drei verschiedene Single Nucleotide Polymorphismen des IL-1B-Gen (IL-1B-3954 (rs1143634), IL-1B-31(rs1143627), IL1-B-511(rs16944)) und eine Minisatellitensequenz (IL-1RN Intron 2).
2. Lassen sich nach Stratifikation z.B. bei Atopikern (Personen mit allergischer Rhinokonjunktivitis und / oder allergischem Asthma bronchiale und / oder atopischem Ekzem) oder bei Metallallergikern (hier speziell gegen Nickel, Kobalt oder Chrom) verschiedene Muster zwischen den beiden Gruppen erkennen?
3. Kann man anhand der Ergebnisse dieser Arbeit Risikofaktoren für Endoprothesenunverträglichkeit ermitteln?

3 Material und Methoden

In der vorliegenden Studie wurde im Vergleich zwischen beschwerdefreien und komplikationsbehafteten Endoprothesenträgern untersucht, inwiefern ausgewählte Zytokinpolymorphismen sich unterscheiden. Zudem lagen klinische Daten, Fragebogen-gestützte Anamnese und Testergebnisse der Allergiediagnostik (Epikutantest, Lymphozytentransformationstests) vor. Diese Informationen konnten in die Auswertung mit einbezogen werden. Bei den beschwerdebehafteten Patienten waren von den betreuenden Orthopäden „übliche“ Beschwerdeauslöser wie Fehlstellung, Lockerung, sonstige mechanische Ursachen und Infekt ausgeschlossen worden, bevor eine Allergiediagnostik durchgeführt wurde.

3.1 Materialien

3.1.1 Reagenzien und Firmen

<u>Reagenzien</u>	<u>Firma</u>
DNA Isolierung	
peqGOLD Blood DNA Mini Kit (Order No. 12-3482-02)	Peqlab
PCR	
Phusion Hot Start II DNA Polymerase	Thermo Scientific
IL-1beta-3954 Primer	MWG-Biotech
IL-1beta-31 Primer	MWG-Biotech
IL-1beta-511 Primer	MWG-Biotech
IL-1RN	MWG-Biotech
Ultrapur dNTP Set 2'-Desoxynukleosid 5'-Triphosphat	Amersham Pharmacia Biotech Inc
Restriktionsverdau	
Taq 1	Thermo Scientific
Alu1	Thermo Scientific
Ava1	Thermo Scientific

Reagenzien**Firma****Agarose Gel**

Agarose	Invitrogen
100bp DNA ladder	Promega
Blue/Orange 6x Loading Dye	Promega

Isolierung mononukleärer Zellen

Ficoll-Paque™ Plus	Amersham Biosciences
Heparin-Natrium	Braun
Medium RPMI-1640	Sigma
L-Glutamin	Biochrom
humanes AB-Serum	PAN Biotech
MEM Vitamine	Biochrom AG
Non-essential-amino-acids (NEAA)	Biochrom AG
Antibiotic-/Antimykotic-Lösung	Gibco
Hanks' Salt Solution (HBSS)	Biochrom AG
HEPES	Biochrom AG

Cytometric Bead Array (CBA)

Human Soluble Protein Master Buffer Kit	BD Biosciences
IL-1 beta Flex Set human	BD Biosciences
IL-5 Flex Set human	BD Biosciences
IL-6 Flex Set human	BD Biosciences
IL-8 Flex Set human	BD Biosciences
IL-10Flex Set human	BD Biosciences
TNF α Flex Set human	BD Biosciences

Allgemein:

Wasser, Nuklease-frei, steril-filtriert und autoklaviert	Roth
Ethanol, Rotipuran $\geq 99,8\%$ p.a.	Roth

Essigsäure (96%) Merck

3.1.2 Geräte und Firmen

<u>Geräte</u>	<u>Firma</u>
Bio Photometer	Eppendorf
Brutschrank	Napco
Durchflusszytometer FACSCanto™	BD Biosciences
Gefrierschrank (-80°C)	GLF
Gelkammer V15 17	Peqlab
Kühlschrank mit Gefriereinheit	Bosch
Magnetrührer IKA-Combimag RCH mit Heizplatte	Janke + Kunkel
Neubauer-Zählkammer	Zintlnc
Pipettensatz (0.5-1000µl)	Eppendorf
Thermocycler iCycler (96 x 0,2ml)	Bio Rad
Thermocycler TGRADIENT	Biometra
Thermomixer comfort	Eppendorf
Tischwaage R300	Sauter
Tischcentrifuge 5415R	Eppendorf
Vortex	Bender + Hobein AG

3.1.3 Verbrauchsmaterialien und Firmen

<u>Verbrauchsmaterialien</u>	<u>Firma</u>
0,2ml -PCR-Tubes	Eppendorf
1,5ml Safe-Lock Tubes	Eppendorf
Pipettenspitzen (10µl, 100µl, 200µl, 1000µl)	Biosphere
12- Well Flat Bottom Suspension Cell	Sarstedt
50ml-Röhrchen	Sarstedt

3.1.4 Puffer und Lösungen

10x TBE-Puffer:	108g Trizma Base
	55g Borsäure
	40ml 0,5M EDTA (pH 8.0)
	ad 1l H ₂ O dest

3.2 Blutspender/ Ein- und Ausschlusskriterien

Wie unter „Ziel der Arbeit“ ausgeführt sollte diese Arbeit nach möglicherweise unterschiedlichen Polymorphismen des IL-1B-Gens im Vergleich beschwerdebehaftete / beschwerdefreie Endoprothesenträger suchen. Dafür wurde DNA aus den Zellen des peripheren Blutes verarbeitet. Zwar konnte, wie anschließend unter dem Punkt „Statistik“ ausgeführt, eine Fallzahlbestimmung nicht erfolgen, allerdings schien uns eine Zahl von 200 Studienteilnehmern sinnvoll. Zwei Gruppen von Personen wurden als Blutspender für diese Untersuchung vorgesehen: A) Beschwerdebehaftete Patienten, die mit der Verdachtsdiagnose Metallimplantatallergie bzw. zu deren Ausschluss von ihren betreuenden Ärzten zur allergologischen Diagnostik in unsere Implantatallergie-Sprechstunde zugewiesen wurden; B) Patienten mit beschwerdefreier Endoprothetik, bei denen studienbedingt als „Vergleichskollektiv“ ebenfalls eine allergologische Diagnostik durchgeführt wurde. Generell galten für beide Gruppen als Einschlusskriterium Volljährigkeit, keine Schwangerschaft, keine schwerwiegende/maligne Grunderkrankung, keine Einnahme immunmodulierender oder immunsupprimierender Medikamente, „informed consent“ d.h. Zustimmung zur Untersuchung. Für Gruppe A (beschwerdebehaftete Patienten) galten weiterhin folgende Kriterien: Es sollte ein konsekutiver Studieneinschluss erfolgen, das heißt die Patienten wurden nach Reihenfolge Ihrer Vorstellung in der Implantatallergie-Sprechstunde zur Studienteilnahme gefragt. Die Patienten sollten entweder eine Knie- oder Hüftendoprothese (unabhängig von Modell oder Hersteller) haben, welche Beschwerden verursacht. Primären-doprothetik wäre zu bevorzugen, das beschwerdebehaftete Implantat konnte aber auch eine Revision erhalten haben, die Revision führte aber weiterhin zu Beschwerden. Vorliegen eines Infektes war eines der Ausschlusskriterien. Ein weiteres Ausschlusskriterium war die fehlende Vorab-Durchuntersuchung zu Beschwerdeursachen durch den fachärztlich zur

Allergiediagnostik zuweisenden Arzt/Ärztin. Dabei gilt generell, dass vor Beginn der „Ausschlussdiagnostik Implantatallergie“ über unsere Sprechstunde eine Durchuntersuchung des Patienten zu „üblichen“ Beschwerdeauslösern durch die Zuweiser gefordert wird. Wir sind dabei sowohl von der Kompetenz der orthopädisch/chirurgischen Fachkollegen ausgegangen, als auch von dem Umstand, dass die Zuweisung stattfand, weil die behandelnden Kollegen/innen keine Ursachen für die Beschwerden finden konnten. So sind wir von einer stattgefundenen orthopädischen Untersuchung, konventioneller Röntgendiagnostik sowie eventuell auch ergänzender Diagnostik (wie beispielsweise Gelenkpunktion zur Infektbeurteilung oder weitere apparative Diagnostik zum Abschätzen einer möglichen Malposition) ausgegangen. Wir selbst haben keine ergänzende orthopädische Untersuchung (z.B. zum Bewegungsausmaß) im Rahmen der „Implantatallergiesprechstunde“ vorgenommen.

Möglicherweise hat ein von den Patienten gegenüber dem betreuenden Arzt geäußerter „Metallallergie-Verdacht“ zu einer präferentiellen konsekutiven Vorstellung zur „Implantatallergie-Abklärung“ geführt. Von unserer Seite war dies weder Einschluss- noch Ausschlusskriterium.

Die Blutspender der Gruppe B, d.h. die Kontrollgruppe der beschwerdefreien Endoprothesenträger, kamen aus der Orthopädischen Klinik Rummelsberg, aus der Orthopädischen Klinik der Technischen Universität München und aus der Orthopädischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität. Hier erfolgte auch ein konsekutiver Einschluss der volljährigen Patienten/innen, die entweder zu einer Kontroll-Nachuntersuchung kamen oder sich für eine geplante Endoprothetik an einem anderen Gelenk vorstellten – mit der aktuell einliegenden Endoprothetik aber keine Beschwerden hatten. Die generellen Einschlusskriterien hatten wir oben schon genannt.

Insgesamt wurden 200 Blutproben bearbeitet nach erhaltener schriftlicher Einwilligung. Es wurden jedem volljährigen Spender nach der Einwilligung ca. 2,5ml EDTA-Blut aus einer Armvene entnommen. 450µl dieser EDTA-Blutproben wurden mit 1,3ml RNAlater gemischt und kryokonserviert. Details zur weiteren Bearbeitung sind in den folgenden Abschnitten genannt. Nach Auswertung der Messwerte und Qualitätskontrollen hatte sich leider gezeigt, dass Datensätze von 5 Patienten nicht brauchbar waren. Dementsprechend wurden 195 Blutproben und Datensätze für die Berechnung verwendet.

Das zustimmende Votum der Ethikkommission (Nr.: 230-12) lag vor.

3.3 DNA-Isolierung

DNA wurde aus der eingefrorenen RNAlater-Probe mit dem pepGOLD Blood DNA Mini Kit isoliert.

Zuerst wurden 500 μl RNAlater Blut bei Raumtemperatur und 10.000g 2 Minuten zentrifugiert, der Überstand abpipettiert und danach in 250 μl 10mM Tris (pH 8.0) resuspendiert. Diese Lösung wurde für 10 Sekunden auf einem Vortex-Schüttler gemischt.

Der nächste Schritt war die Lyse der Zellen. Zu dem Probevolumen von 250 μl wurden 25 μl Proteinase K und 250 μl BL Buffer gegeben. Der Lyseansatz wurde ca. 10 Sekunden mit dem Vortex-Schüttler gut gemischt, bevor er für 10 Minuten bei 70 °C inkubiert wurde. Während der Inkubation wurde der Ansatz einmal für 10 Sekunden mit dem Vortex-Schüttler durchmischt.

Nun wurde zu dem Lysat 260 μl Isopropanol gegeben und vorsichtig gemischt. Dieser Gesamtansatz (max. 750 μl) wurde auf die Säulen geladen und für 1 Minute bei 8.000g zentrifugiert. Das Ziel dieses Schrittes war, die DNA an die Silikonmembran der PerfectBind DNA Column zu binden.

Nach dem Zentrifugieren wurde der Säulendurchfluss verworfen, der Waschvorgang begann mit dem Ziel zelluläre Bestandteile und andere Kontaminationen zu entfernen. Das Waschen der Lösung erfolgt in drei Arbeitsschritten. Zunächst wurden 500 μl PW Blood Buffer auf die Säule pipettiert und wieder bei 8.000g 1 Minute lang zentrifugiert. Danach wurde der Durchfluss verworfen, es wurden 600 μl DNA Wash Buffer dazu gegeben und wieder bei 8.000g 1 Minute lang zentrifugiert. Dieser Schritt wurde nach Verwerfen des Säulendurchflusses nochmals wiederholt. Nach dem Zentrifugieren wurde der Durchfluss wieder verworfen und erneut zentrifugiert (2 Minuten bei 10.000g), um den restlichen Wash Buffer zu entfernen und um die Säule trocken zu zentrifugieren.

Anschließend wurden die Säulen auf sterile 1,5 ml Eppendorf- Tubes gesetzt. 200 μl , Elution Buffer (vorgewärmt auf 70°C) wurden direkt auf die Matrix pipettiert und für 2 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert, dann wiederum bei 5.000g für 1 Minute zentrifugiert. Diese Elution wurde insgesamt zweimal wiederholt.

3.3.1 Konzentrationsbestimmung der DNA

Die Konzentrationsbestimmung wurde mittels eines Photometers bei einer Wellenlänge von 260nm durchgeführt, 10µl der gerade gewonnenen DNA wurden mit Aqua dest. verdünnt. Das Ergebnis wurde mit Hilfe des Lambert-Beer'schen Gesetzes ermittelt:

$$c = E_{260nm} \times f / (\epsilon \times d)$$

c = Konzentration (ng/µl)

E_{260nm} = gemessener Extinktionskoeffizient bei 260 nm

f = Verdünnungsfaktor

d = Schichtdicke (1 cm)

ε = Extinktionskoeffizient:

ds DNA: 50-1µl/ng

3.3.2 Ethanolfällung

Die gelöste DNA wurde mit 1/10 des Volumens einer 3M Natriumacetat-Lösung und dem 2,5fachen des Volumens an kaltem absolutem Ethanol versetzt. Dieses Gemisch wurde vorsichtig geschüttelt und danach bei -20°C über Nacht inkubiert.

Am nächsten Tag wurde die Mischung bei 4°C für 10 Minuten bei höchster Geschwindigkeit zentrifugiert, der Überstand wurde vorsichtig abgesaugt. Anschließend wurde das Pellet mit 1ml 75% Ethanol gelöst und wieder bei 4°C für 10 min mit max. Geschwindigkeit zentrifugiert. Nach dem Zentrifugieren wurde der Überstand erneut abgenommen und das Pellet nun bei Raumtemperatur für 5 Minuten getrocknet. Daraufhin wurde das Pellet mit genau der Menge Elution Buffer gelöst, so dass 40 ng/µl DNA in einer Probe enthalten waren. Die Proben wurden nochmals auf Eis gestellt.

3.4 Genotypisierung

3.4.1 Untersuchte Polymorphismen

In dieser Studie wurden vier Polymorphismen des IL-1 Gens untersucht, vollständige Bezeichnung und Basensequenzen sind in Tabelle 1 aufgelistet.

Polymorphismus	Sequenzen
IL-1B-3954 (rs1143634)	CTCCACATTTTCAGAACCTATCTTCTT[C/T]GACACATGG- GATAACGAGGCTTATG
IL-1B-511 (rs16944)	CTACCTTGGGTGCTGTTCTCTGCCTC[A/G]GGAGCTCTCTGTCA- ATTGCAGGAGC
IL-1B-31 (rs1143627)	AGCCTCCTACTTCTGCTTTT- GAAAGC[C/T]ATAAAAACAGCGAGGGAGAACTGG
IL-1RN Intron 2 VNTR (rs2234663)	ACTCCTATTGACCTGGAGCACAGGT[(ATCCTGGGGAAAGT- GAGGGAAATATGGACATCACATGGAACAACATCCAGGAGACT- CA- GGCCTCTAGGAGTAACTGGGTAGTGTGC)2/3/4/5/6]TTGGTTTA

Tabelle 1: Basensequenz der verwendeten Polymorphismen mit den polymorphen Basen in eckigen Klammern

Die Typisierung der Polymorphismen IL-1B-3954(rs1143634), IL-1B-511 (rs16944), IL-1B-31 (rs1143627) und des Mini-Satelliten IL-1RN Intron 2 VNTR (rs2234663) wurde in dieser Studie durch Amplifizierung mittels PCR und Restriktionsverdau durchgeführt

3.4.2 Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) ist eine Methode, um zielgerichtet bestimmte DNA-Abschnitte zu amplifizieren. Sie wurde erstmals 1986 von Mullis et al. beschrieben⁶⁹.

Es wurde eine sog. Hot-Start-PCR verwendet, das heißt, der erste Schritt ist eine einmalige längere Denaturierung bei 98°C für 25 sec, um sicher zu stellen, dass alle DNA-Stränge getrennt worden sind.

Daraufhin folgen die 40 PCR Zyklen. Sie laufen in drei sich wiederholenden Schritten ab. (Die angegebenen Temperaturen beziehen sich auf die in dieser Studie verwendeten Temperaturen).

Denaturierung bei 98°C, dabei trennen sich die komplementären Stücke der DNA.

Annealing, Primer abhängige Temperatur: bei diesem Schritt lagert sich der Primer an das zu vervielfältigende komplementäre DNA Stück an.

Polymorphismus	Primersequenzen	Annealing-Temperatur
IL-1beta-3954 (rs1143634) (PrimerA)	GTTGTCATCAGACTT- TGACC TTCAGTTCATATG- GACCAGA	52°C
IL-1beta- 31 (rs1143627) (Primer B)	TCTTTTCCCCTTTTCCTT- TAACT GAGAGACTCCCT- TAGCACCTAGT	55°C
IL1-beta-511 (rs16944) (Primer C)	TGGCATT- GATCTGGTTCATC GTTTAGGAATCTT- CCCACTT	55°C
IL-1RN Intron 2 VNTR (rs2234663) (Primer D)	CCCCTCA- GCAACACTCC GGTCA- GAAGGGCAGAGA	65°C

Tabelle 2: Basensequenz der verwendeten Primer mit spezifischer Annealing-Temperatur

Elongation bei 72°C. In diesem Schritt entsteht ein komplementärer DNA Strang.

Bei jedem Zyklus verdoppelt sich die Anzahl der DNA Stränge. Es werden 40 Zyklen durchgeführt.

Nach den 40 Zyklen schließt sich ein letzter Schritt, die **Endextension**, an. Bei 72°C für 10 Minuten werden unvollständige PCR-Produkte komplementiert. Anschließend wird auf 4°C heruntergekühlt.

Für die oben genannte PCR-Reaktion wurden folgende Bestandteile in ein 0,2µl PCR-Tube gegeben:

Aqua Dest.	30,5µl
5x Phusion HF	10µl
Primer Mix	2µl
10mM NTP's	2µl
DNA Template	5µl

Phusion Polymerase 0,5µl

Zu jedem PCR- Ansatz wurde eine Kontrollprobe, destilliertes Wasser anstelle der DNA-Probe, beigelegt, um mögliche Kontaminationen auszuschließen.

3.4.3 Restriktionsverdau

Restriktionsendonukleasen können an bestimmten Stellen der DNA sequenzspezifisch schneiden. Existiert der gesuchte Polymorphismus, kann dieses Enzym dort schneiden, und es entstehen unterschiedlich lange DNA-Stränge, die in einer Agarosegelelektrophorese dargestellt werden können.

Bei Mini-Satelliten DNA, wie bei dem Polymorphismus IL-1RN Intron 2 VNTR (rs2234663), ist kein Restriktionsverdau nötig, da dort bereits in der PCR unterschiedlich lange DNA-Stücke auftreten.

In dieser Studie wurden die in Tabelle 3 dargestellten Restriktionsansätze in ein 0,2µl PCR-Tube gegeben und bei der angegebenen Temperatur inkubiert.

Komponente	Taq I: IL-1beta-3954 (Primer A)	Alu 1: IL- 1beta- 31 (Pri- mer B)	Ava 1: IL1-beta-511 (Primer C)
H2O	16µl	16µl	16µl
10x Buffer	3µl	3µl	3µl
PCR- Produkt	10µl	10µl	10µl
Enzym	1µl	1µl	1µl
Inkubation	65°C, 10min	37°C, 30min 65°C, 5min	37°C, 10min 65°C, 5min

Tabelle 3: Restriktionsverdauansatz und Inkubationszeit

3.4.4 Agarosegelelektrophorese

Durch die Agarosegelelektrophorese können die Fragmente des Restriktionsverdaus sichtbar gemacht werden. Hier wird die Ladung der DNA ausgenutzt, denn durch ihre negative Ladung wandert die DNA in einem elektrischem Feld. Die DNA Stücke werden nach ihren Basenpaar-längen getrennt.

Es werden jeweils 20µl des Restriktionsverdaus auf ein 2,5%iges Agarosegel gegeben. In die erste Geltasche jeder Spur wurde eine 100bp-Leiter aufgetragen. Der Gellauf erfolgt bei 100V für ca. zwei Stunden. Danach wurde das Gel mit Ethidiumbromid gefärbt und die Banden unter UV-Licht sichtbar gemacht. Beispiel-Elektrophorese-Resultate sind hier in Abbildung 1 gezeigt.

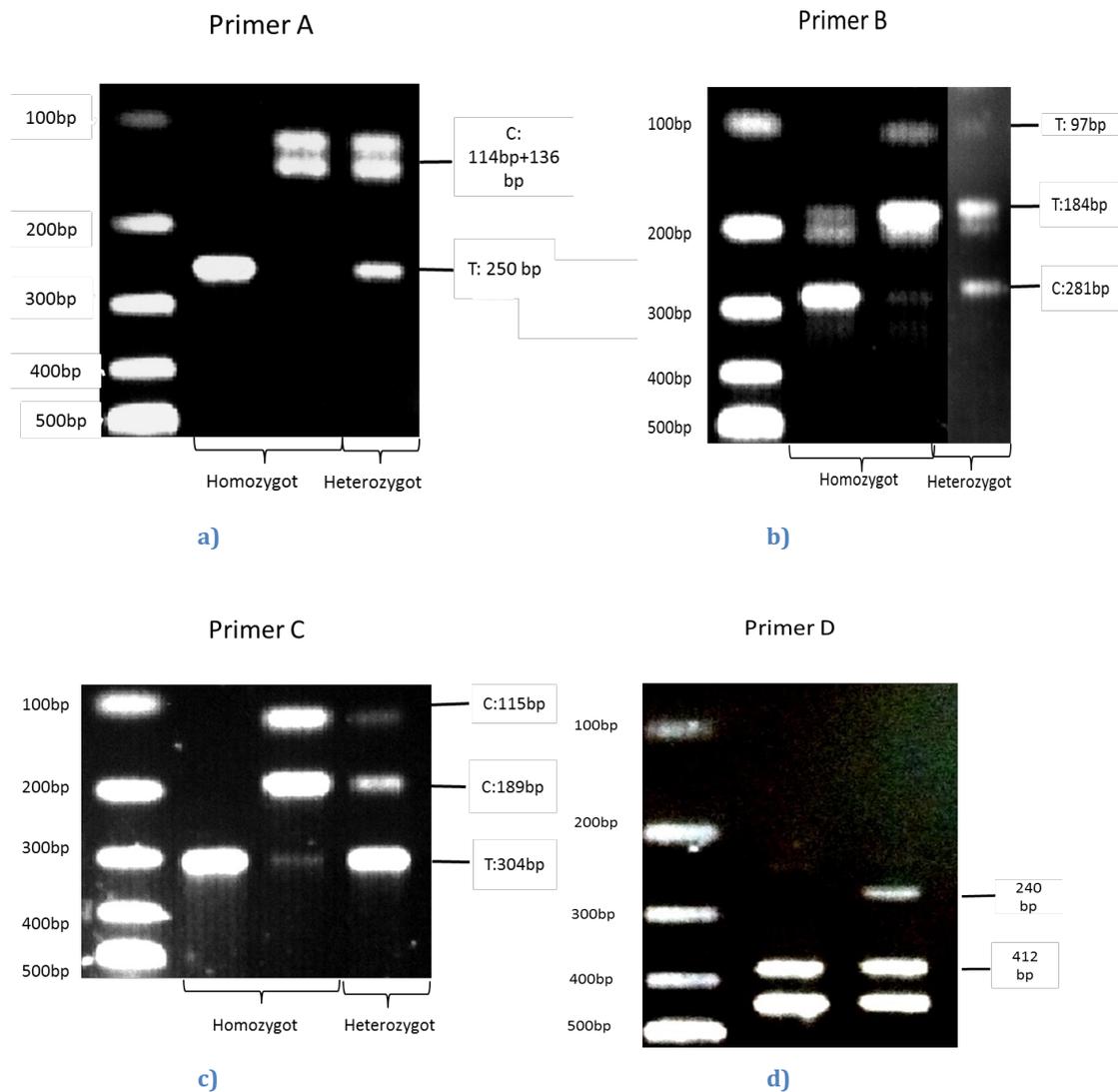


Abbildung 1: Gel-Elektrophorese-Resultate a) Primer A IL-1beta-3954 , b) Primer IL-1beta- 31, c) Primer C IL1-beta-511, d) Primer D IL-1RN Intron 2 VNTR

Nach dem Restrektionsverdau entstehen unterschiedlich lange Fragmente (Tabelle 4), je nach dem, welches Allel vorhanden ist, wird es geschnitten oder es bleibt unverdaut. Bei IL-1RN Intron 2 VNTR (rs2234663) sind bereits nach der Amplifikation mittels PCR unterschiedlich lange Fragmente vorhanden. Diese entstehen aus der unterschiedlichen Zahl der Wiederholungen des 86 Basenpaar-langen Genabschnittes.

Polymorphismus	Fragmentlängen
IL-1B-3954 (rs1143634)	T: 250 bp (ungeschnitten) C: 136 bp + 114 bp (geschnitten)
IL-1B-31 (rs1143627)	C: 281 bp (ungeschnitten) T: 184 + 97 bp (geschnitten)
IL-1B-511 (rs16944)	T: 304 bp (ungeschnitten) C: 189 bp + 115 bp (geschnitten)
IL-1RN Intron 2 VNTR (rs2234663)	Allel 1: 412 bp (4 Wiederholungen) Allel 2: 240 bp (2 Wiederholungen) Allel 3: 498 bp (5 Wiederholungen) Allel 4: 326 bp (3 Wiederholungen) Allel 5: 584 bp (6 Wiederholungen)

Tabelle 4: Länge der geschnitten und ungeschnittenen PCR-Produkte

3.5 Hintergrundinformation zu den Patienten

3.5.1 Fragebogen-gestützte Anamnese

Die Anamneseerhebung in der Implantatallergiesprechstunde wurde beim Aufnahmegespräch durch einen standardisierten Fragenbogen ergänzt. In diesem wurden Vorerkrankungen, Implantat- und Knochenzementtypen sowie Beschwerden, die Art einliegender Implantate, Dentalmaterialverträglichkeit und Allergianamnese erfragt. Nach Abschluss der Studie war aufgefallen, dass unter dem Fragebogen-Punkt „Haben Sie heute Beschwerden in Zusammenhang mit dem Implantat“ auch die anzukreuzende Antwort „Lockerung“ aufgeführt ist. Da dies jedoch nicht den Beschwerden zuzurechnen ist, sondern eine Diagnose (vermutlich vom betreuenden Arzt dem Patienten mitgeteilt) darstellt, haben wir dies entsprechend im Ergebnisteil unter 4.1. nochmals im Text erwähnt und nicht in die Tabelle 7 („Art der Beschwerden“) mit aufgenommen. Im Anhang ist der Fragebogen abgebildet, Abbildung 2 und Abbildung 3 .

3.5.2 Allergiediagnostik

Bei den in der Implantatallergiesprechstunde betreuten Beschwerden-behafteten Patienten wurden entsprechend der Zuweisung („Verdacht auf Implantatallergie / Ausschluss Implantatallergie“) im Anschluss an das Anamnesegespräch ein Epikutantest (ECT) und ein

Lymphozytentransformationstest (LTT) durchgeführt. Beide Testungen werden zur Beurteilung einer Spättyp-Sensibilisierung eingesetzt. Dabei ist der ECT ein standardisiertes Routineverfahren der Allergiediagnostik, das z.B. bei Verdacht auf eine Metallallergie oder eine Allergie auf einen Knochenzementbestandteil angewendet wird.

Der ECT umfasst die Standardreihe (welche bereits Testpräparationen zu Nickel, Kobalt, Chrom enthält), eine zusätzliche Implantatmetall-Reihe (enthält Testpräparationen zu Mangan, Molybdän, Titan und Vanadium) sowie - falls Knochenzement verwendet wurde - eine Testreihe mit potentiellen Knochenzementkomponenten (Testpräparationen zu Methylmethacrylat, Hydroxyethylmethacrylat (HEMA), Benzoylperoxid, Hydrochinon, N,N-Dimethyl-p-Toluidin, Kupfer und Gentamicin). Die Knochenzementkomponenten-Testreihe wurde von unserer Arbeitsgruppe etabliert, indem die o.g. zur Testung zugelassenen Einzelsubstanzen zu einer Testreihe zusammengefügt wurden. Dabei war auch die Testpräparation zu Gentamicin mit aufgenommen, da wir a) im Vorfeld anhand der Implantatpässe bei Patienten oft die Verwendung Antibiotika- (speziell Gentamicin-) haltiger Knochenzemente gesehen hatten und b) unter anderem in dem im Springer Verlag erschienenen Standardwerk „PMMA Cements“ von Prof. Kühn ebenfalls auf die häufige Verwendung von Antibiotika-(speziell Gentamicin-) haltigem Knochenzement hingewiesen wird⁵⁵. Erfreulicherweise wurde auf der Wintersitzung der DKG (Deutsche Kontaktallergiegruppe) im November 2019 die oben beschriebene Knochenzementtestreihe offiziell empfohlen und in die deutschen Testprogramme mit aufgenommen. Die Testablesung wurde gemäß Vorgabe der DKG (Deutsche Kontaktallergiegruppe) durchgeführt^{86,87}. Der LTT wurde mit den Metallen Nickel, Chrom, Kobalt gemäß Summer et al^{89,91,92} durchgeführt. Wie unter „Ziel der Arbeit“ ausgeführt steht die Zytokin-Polymorphismus-Beurteilung im Mittelpunkt der Dissertation, sodass dieser Aspekt unter 3.3.ausführlicher dargestellt wurde.

3.6 Statistik

Bei der vorliegenden Studie gab es mehrere Besonderheiten, die auf eine statistische Auswertung der Daten Einfluss nehmen. So liegt zum Thema „Zytokin-Polymorphismen und komplikations-/beschwerdenbehaftete Endoprothetik“ keine Veröffentlichung vor. Dementsprechend gab es auch keine Vergleichsdaten für eine mögliche Fallzahlberechnung. Deshalb wurde eine Fallzahlabeschätzung auch nicht durchgeführt, da es sich um die erste Studie mit dieser Fragestellung handelt. Weiterhin hatten wir ein relativ heterogenes Patientengut (hauptsächlich „Knieendoprothetik“) in Bezug auf komplikations-/beschwerdebehaftete Endoprothetik, welches aus einer konsekutiven Patientenreihe aus der „Implantat-Allergiesprechstunde“ resultierte. Andererseits gingen wir davon aus, dass „Zytokinpolymorphismen“ zwar personengebunden sind aber nicht vom verwendeten Implantattyp / Knochenzement abhängen – und wir mit den o.g. Einschränkungen doch Aussagen machen könnten. Zur Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten hatten wir uns an das Beratungslabors (StaBLab) am Institut für Statistik der Ludwig-Maximilians-Universität (Leitung von Prof. Küchenhoff) gewandt und entsprechende Hilfe bei der Datenauswertung erhalten.

Die Berechnung der Daten erfolgte mittels Kreuztabellen. Die kategorialen Variablen wurden als Häufigkeiten und Prozentsätze ausgedrückt über Einsatz des *Fisher's Exact Test* mit einem Allel-Modell, um die Allel-Verteilung in den Gruppen darzustellen. Der *Fisher's Exact Test* wurde gewählt, da er im Vergleich zum *Chi-Quadrat Test* keine Anforderungen an den Stichprobenumfang stellt und auch bei kleineren Beobachtungszahlen zuverlässige Resultate erzielt. Des Weiteren erfolgten Chancen- Analysen mit Odds Ratio, um die Stärke des Zusammenhangs der Merkmale darzustellen. Diese statistischen Methoden wurden bereits von anderen Autoren im Rahmen von Studien zu genetischen Assoziationen bei verschiedenen Erkrankungen verwendet^{16,61,111}.

Zu berücksichtigen ist weiterhin, dass es sich um eine explorative Studie handelt. Daher wurden keine Korrekturen des Signifikanzniveaus vorgenommen.

4 Ergebnisse

4.1 Charakteristika der Studienpopulation

Die Studienpopulation besteht insgesamt aus 195 Kaukasiern. Davon befinden sich 102 Personen in der Beschwerdegruppe (mit vom zuweisenden Arzt nicht eruierbaren Auslösern der Beschwerden und damit Vorstellung zur Abklärung bei Verdacht auf Implantatallergie) und 93 Personen mit beschwerdefreien Endoprothesen in der Kontrollgruppe. Die Beschwerdegruppe setzte sich aus 72 weiblichen und 30 männlichen Personen zusammen, während die Kontrollgruppe aus 70 weiblichen und 23 männlichen Personen besteht. Der Altersdurchschnitt der Beschwerdegruppe lag bei 64 Jahren, in der Kontrollgruppe bei 71,7 Jahren; siehe Tabelle 5.

	Beschwerdegruppe		Kontrollgruppe	
Gesamt	102		93	
Alter				
Mittelwert	64		71,7	
Min	41		18	
Max	81		96	
Geschlecht				
Weiblich	72	70,60%	70	75,30%
Männlich	30	29,40%	23	24,70%

Tabelle 5: Alter und Geschlechterverteilung der Studienpopulation

Zu allen Personen liegen klinische Daten, Fragebogen-gestützte Anamnese und Ergebnisse der Allergie Diagnostik vor; sofern vorhanden auch Kopien der Implantatpässe; die Ergebnisse der Vorabuntersuchung der Beschwerdepatienten durch die zuweisenden Ärzte sind nur teilweise vorhanden.

Die folgenden Zahlen wurden mittels der Fragebogen gestützten Anamnese erhoben.

Die Beschwerdegruppe besteht aus 98 Personen mit Knie-Endoprothesen und vier Personen mit Hüft-Endoprothesen. Von diesen 102 Personen hatten 71 eine Primärendoprothetik und bei 31 waren bereits (uns im Detail nicht bekannte) Revisionseingriffe vorgenommen worden. In

der Kontrollgruppe haben 41 Personen Knie-Endoprothesen und 52 Hüft-Endoprothesen. Die mittlere Endoprothesen-Liegedauer in der Beschwerdegruppe ist 21,4 Monate (+/- 16,7 Monate) und in der Kontrollgruppe 54,1 Monate (+/- 42,4 Monate). Vereinzelt Patienten hatten im Anamnesebogen zwar keine Angaben zu „zementiert / unzementiert“ gemacht, es konnten aber ergänzend über Notizen des Anamnese-Gesprächs und über den Implantatpass die entsprechenden Informationen erhalten werden. Dementsprechend gab es in der Beschwerdegruppe 91 Implantatträger mit Knochenzementverwendung sowie in der Kontrollgruppe 31, siehe Tabelle 6.

Von den 11 nicht zementierten Endoprothesen in der Beschwerdegruppe sind vier Hüftendoprothesen und 7 Knieendoprothesen. Von diesen 7 Knieendoprothesen sind vier Primärendoprothesen und drei Revisionen. Es wurden keine weiterführenden Angaben gemacht warum bei diesen Patienten kein Knochenzement verwendet wurde.

Lokalisation	Beschwerdegruppe N= 102		Kontrollgruppe N=93	
Knie	98	96,10%	41	44,10%
Hüfte	4	3,90%	52	55,90%
Liegedauer in Monaten	21,4 (+/- 16,7)		54,1 (+/-42,4)	
Knochenzement-Verwendung aktuell				
ja	91	89,2%	31	33,3%
nein	11	10,8%	54	58,1%
unbekannt	0	0%	8	8,6%

Tabelle 6: Lokalisation der Implantate, Liegedauer mit (+/-) Standardabweichung, Verwendung von Knochenzement.

Die Implantate stammen von verschiedenen Firmen. Anhand der uns vorliegenden Daten können wir sagen: In der Beschwerdegruppe wurden am häufigsten Endoprothesen von der Firma DePuy (30 Stück) und Zimmer/Centerpulse (30 Stück), am zweit häufigsten von der Firma Stryker (9Stück) verwendet. Die restlichen Implantate sind von diversen anderen Firmen, unter anderem von Biomet Oxford, Smith&Nephew, ESKA. In der Kontrollgruppe wurde die Firma ESKA (37 Stück) am häufigsten beobachtet. Am zweithäufigsten wurden Endoprothesen der Firma Zimmer/Centerpulse (13 Stück) implantiert. Bei 32 Personen sind uns die Implantat-Hersteller unbekannt, siehe Tabelle 18 im Anhang. Insgesamt wurde somit Endoprothetik von

verschiedenen Herstellern repräsentiert. Die Heterogenität der verwendeten Endoprothesenmodelle sowie der Einschluss von Knie- und Hüftendoprothetik führt zu einer Stichprobenverzerrung – auch im Hinblick auf unterschiedlich ausgeprägten Beschwerden in Abhängigkeit von Hüft- oder Knieendoprothetik.

Des Weiteren wurde nach der Art der Beschwerden gefragt. In der Beschwerdegruppe leiden 94,1% an Schmerzen, 78,4% unter Bewegungseinschränkung, 71,6% unter Schwellungen und 30,4% unter Ergüssen des betroffenen Gelenks, seltener wurden Rötungen oder Ekzeme erwähnt. In der verwendeten Version des Fragebogens wurde auch „Lockerung“ als „Ankreuzantwort“ unter der Rubrik „Beschwerden“ gelistet. Wie unter 3.5.1. erwähnt ist „Lockerung“ jedoch nicht den Beschwerden zuzurechnen, sondern es stellt eine Diagnose (vermutlich vom betreuenden Arzt dem Patienten mitgeteilt) dar. Dementsprechend geben wir hier separat an, dass 20 Patienten der Beschwerdegruppe „Lockerung“ mit genannt haben. Die Kontrollgruppe war beschwerdefrei. Teils lagen mehrfache Antworten, d.h. mehrere angegebene Beschwerden/Patient vor. Dies ist in Tabelle 7 zusammengefasst.

Art der Beschwerden	Beschwerdegruppe N=102		Kontrollgruppe N= 93	
Schmerzen	96	94,1%	0	0%
Rötung	15	14,7%	0	0%
Ekzem	7	6,9%	0	0%
Erguss	31	30,4%	0	0%
Schwellung	73	71,6%	0	0%
Bewegungseinschränkung	80	78,4%	0	0%

Tabelle 7: Art der Beschwerden in der Studienpopulation (Mehrfach Antwort möglich), die Angabe der Lockerung wurde nicht mit aufgeführt, da es sich um eine Diagnose handelt.

Bei der Frage nach dem Vorhandensein von künstlichem Zahnmaterial zeigte sich, dass in der Beschwerdegruppe 96 Personen künstliches Zahnmaterial haben. 16 der 96 Personen aus der Beschwerdegruppe gaben „Probleme“ mit den künstlichen Zahnmaterialien an. In der Kontrollgruppe gibt es 79 Personen mit künstlichem Zahnmaterial. In dieser Gruppe hat niemand Beschwerden mit den künstlichen Zahnmaterialien angegeben; siehe Tabelle 8.

Künstliches Zahnmaterial	Beschwerdegruppe N= 102		Kontrollgruppe N= 93	
künstliches Zahnmaterial	96	94,1%	79	84,9%
Beschwerden durch künstliches Zahnmaterial	16	15,7%	0	0,0%

Tabelle 8: Angaben über künstliches Zahnmaterial und Zahnmaterial- Beschwerden in der Studienpopulation

26 Personen in der Beschwerdegruppe waren Raucher, 72 waren Nichtraucher, bei 4 Personen fehlten die Daten. In der Kontrollgruppe waren 20 Raucher und 73 Nichtraucher; siehe Tabelle 9.

Rauchen	Beschwerdegruppe N= 102		Kontrollgruppe N=93	
Rauchen früher	19	18,60%	16	16,70%
Rauchen heute	7	6,90%	4	3,80%
Raucher insgesamt	26	25,5%	20	20,5

Tabelle 9: Rauchverhalten der Studienpopulation

Zusätzlich wurde nach Vorhandensein von Erkrankungen aus dem atopischen Formenkreis gefragt, d.h. nach Heuschnupfen, allergischem Asthma und Neurodermitis. Dabei war eine Mehrfachnennung möglich. Wenn eine der Erkrankungen vorliegt spricht man von einer Atopie. In der Beschwerdegruppe gibt es 25 Atopiker. In der Kontrollgruppe berichten 15 Personen von einer Atopie, die restlichen 78 Personen haben keine Atopie. Die Verteilung der einzelnen Krankheiten kann Tabelle 10 entnommen werden.

Eine anamnestische kutane Metallunverträglichkeit (KMU; z.B. Juckreiz, Rötung, Ekzem bei Metallkontakt über Ohrring, Uhrarmband, Jeansknopf, Modeschmuck) ergibt sich bei 25 Personen aus der Beschwerdegruppe. In der Kontrollgruppe berichten 9 Personen über eine KMU, siehe Tabelle 10. Diese Angaben wurden beim Ausfüllen des Fragebogens gemacht. Uns ist aber nicht bekannt, ob diese „KMU“ erst kürzlich aufgefallen war oder schon seit Jahren bestand.

	Beschwerdegruppe N= 102		Kontrollgruppe N=93	
Atopie gesamt	25	24,5%	15	16,1%
Heuschnupfen	19	18,7%	11	11,8%
Asthma	13	12,7%	5	5,4%
Neurodermitis	0	0,0%	0	0,0%
Kutane Metallunverträglichkeit (KMU)	25	24,5%	9	9,7%

Tabelle 10: Atopie und kutane Metallunverträglichkeit in der Studienpopulation (Mehrfach-Antwort möglich)

Des Weiteren wurden Epikutantestungen (ECT) nach den Standards der Deutschen Kontaktallergie-Gruppe (DKG) durchgeführt. Unter anderem wurden Nickel-, Chrom- und Kobalt-Präparationen getestet, welche über die bei jedem Patienten getestete Standardreihe erfasst sind.

Bei Personen mit zementierten Endoprothesen wurden auch die unter 3.5.2. beschriebenen Knochenzementkomponenten getestet. Details siehe Tabelle 19 im Anhang.

Auf Nickel reagierten in der Beschwerdegruppe 20 Patienten positiv, in der Kontrollgruppe 9. Auf Kobalt wurden 7 positive Reaktionen in der Beschwerdegruppe gesehen, in der Kontrollgruppe reagierten 9 Patienten positiv.

Auf Chrom reagierten in der Beschwerdegruppe 2 Probanden positiv. In der Kontrollgruppe reagierte einer positiv.

Der ECT mit den Knochenzementkomponenten wurde bei allen Patienten mit zementierten Endoprothesen durchgeführt. In der Beschwerdegruppe war bei einem Patienten die Primärendoprothese zunächst zementiert. Er wurde jetzt zur Implantatallergie-Diagnostik vorgestellt mit der aktuell revidierten, nicht mehr zementierten Endoprothetik. Deswegen wurde trotz der aktuell nicht zementierten Endoprothetik wegen der Frage nach vorab bestandener Knochenzementallergie ein ECT auf die Knochenzementkomponenten durchgeführt. Auch in der Kontrollgruppe wurde eine Person bei unzementierter Endoprothetik zusätzlich auf die Knochenzementkomponenten getestet, da sich in der Anamnese der V.a. auf eine Acrylat-Unverträglichkeit ergab. Dies erklärt weshalb insgesamt bei 92 Personen aus der Beschwerdegruppe und 32 Personen aus der Kontrollgruppe die Knochenzementkomponenten getestet wurden – aber nur bei 91 Personen in der Beschwerdegruppe und 31 in der Kontrollgruppe aktuell zementierte Endoprothesen vorlagen. In der Beschwerdegruppe wurden bei 2 Personen, bei denen eine ECT auf Knochenzementkomponenten durchgeführt wurde, kein Gentamicin getestet, genauere Angaben hierzu liegen nicht vor.

In der Beschwerdegruppe traten auf 4 Komponenten positive ECT-Reaktionen auf – in der Kontrollgruppe nur auf eine Komponente. Am häufigsten ist in der Beschwerdegruppe eine positive Reaktion auf Gentamicin (9 Personen) gefolgt von 8 Testreaktionen auf Benzoylperoxid und jeweils 2 auf HEMA sowie auf N,N-Dimethyl-p-Toluidin. In der Kontrollgruppe gab es nur 2 Testreaktionen auf Benzoylperoxid positiv. Die Tabelle 11 zeigt die Testreaktionshäufigkeit, wobei zu den Knochenzement-ECT-Zahlen ergänzt Prozentzahlen in Relation zur Zahl der getestet Knochenzementkomponenten angegeben sind.

	Beschwerdegruppe N= 102		Kontrollgruppe N= 93	
ECT Metalle				
Nickel positiv	20	19,6%	9	9,7%
Kobalt positiv	7	6,9%	3	3,2%
Chrom positiv	2	2,0%	1	1,1%
ECT Knochenzementkomponenten	Beschwerdegruppe N =92		Kontrollgruppe N= 32	
Gentamicin positiv	9	8,8%*, 9,8%**	0	0,0%*, **
Benzoylperoxid positiv	8	7,8%*, 8,7%**	2	2,2%*, 6,3%**
HEMA positiv	2	2,0%*, 2,2%**	0	0,0%*, **
N,N-Dimethyl-p-Toluidin positiv	2	2,0%*, 2,2%**	0	0,0%*, **

Tabelle 11: ECT-Testergebnisse (mehrfach positive Ergebnisse möglich); HEMA= Hydroxyethylmethacrylat. In dieser Tabelle werden nur die positiv getesteten Metalle aus der Standardreihe und die positiven Ergebnisse aus den Knochenzementkomponenten-Testungen dargestellt. *% bezogen auf das gesamte Kollektiv, ** % bezogen auf zementierte Endoprothesen.

Weiter sind Lymphozytentransformationstests (LTT) durchgeführt worden. Eine positive Reaktion ergab sich ab Stimulationsindex 3; darunterliegende Werte waren fraglich oder negativ gemäß den unter 3.5.2 zitierten Literaturstellen. Es zeigte sich bei 29 Personen aus der Beschwerdegruppe eine positive Reaktion gegenüber Nickel im LTT, in der Kontrollgruppe ist bei 18 Personen eine positive Reaktion gegenüber Nickel im LTT gesehen worden. Gegenüber Kobalt wurde bei 3 Personen aus der Beschwerdegruppe und bei einer aus der Kontrollgruppe eine positive Reaktion beobachtet. Der Chrom-LTT zeigte bei 3 Personen aus der Beschwerdegruppe und bei keiner aus der Kontrollgruppe eine positive Reaktion. Die Tabelle 12 stellt dies im Überblick da.

LTT-Test	Beschwerdegruppe N= 102		Kontrollgruppe N= 93	
LTT-Chrom positiv	3	2,9%	0	0,0%
LTT-Kobalt positiv	3	2,9%	1	1,1%
LTT-Nickel positiv	29	28,4%	18	19,4%

Tabelle 12: LTT-Testergebnisse

Abschließend ist zusammenfassend bewertet worden, ob bei Fehlen „sonstiger Ursachen“ für die Beschwerden aber positivem ECT und / oder LTT unter Einbeziehen der Anamnese dementsprechend ein Hinweis auf eine Implantatallergie vorliegt. Diese Bewertung ist subjektiv, da es hierzu keine Referenzliteratur gibt. Wir haben die Wortwahl „Hinweis auf Implantatallergie“ (und Abstufungen) bewusst getroffen, da in der Fachliteratur die Diagnose „Implantatallergie“ kontrovers gesehen wird und oft als Ausschlussdiagnose angesehen wird (unter Einbeziehen

möglichst vieler differentialdiagnostischer Untersuchungsparameter einschließlich Beurteilung der periimplantären Histologie sowie z.B. Beschwerdefreiheit nach Wechsel auf „hypoallergene“ Materialien). Je nachdem, welche und wie viele Allergietest-Parameter positiv waren, wurde dies in Zusammenschau mit Beschwerden als fraglicher, möglicher oder Hinweis auf eine Implantatallergie bezeichnet. Bei insgesamt 54 der 102 Patienten aus der Beschwerdegruppe liegt bei Heranziehen der Allgietestergebnisse kein Hinweis auf eine Implantatallergie vor. In der Kontrollgruppe zeigt sich bei keiner der 93 Personen der Hinweis auf eine Implantatallergie (wobei die Allergietestergebnisse in Zusammenschau mit Anamnese und fehlenden Beschwerden gewertet wurden). Tabelle 13 zeigt dies als Übersicht. Bei der oben genannten, subjektiven Beurteilung bedeuten: „Kein Hinweis“, dass weder der Metall -ECT noch der LTT ein positives Ergebnis zeigten; „möglicher Hinweis“, dass entweder der ECT oder der LTT ein positives Ergebnis zeigten; „Hinweis“, dass ECT und LTT positiv sind; „fraglicher Hinweis“, dass ein einzelnes positives Testergebnis nicht zur Klinik/ Anamnese passt.

Implantatallergie-Hinweis	Beschwerdegruppe N= 102		Kontrollgruppe N= 93	
	N	%	N	%
kein Hinweis	54	52,90%	93	100%
möglicher Hinweis	25	24,50%	0	0%
fraglicher Hinweis	2	2,00%	0	0%
Hinweis	21	20,60%	0	0%

Tabelle 13: Zusammenschauende Bewertung von Klinik und Allergietest-Ergebnissen im Hinblick auf „Hinweis auf Implantatallergie“

4.2 Verteilung der Allelhäufigkeit in der Studienpopulation

In diesem Versuch wurden mittels PCR die Allele der zu untersuchenden Polymorphismen (IL-1-B 3954, IL-1-B-31, IL-1-B-511, IL-1RN Intron 2 VNTR) aus Kontroll- und Beschwerdegruppe bestimmt. Die Studienpopulation wurde nach verschiedenen Aspekten in Subgruppen geteilt, um zu sehen, ob die Polymorphismen in Teilen der Population mit bestimmten Merkmalen häufiger vorkommen oder nicht, d.h. ob es beim Zusammentreffen bestimmter Merkmale additive Effekte gibt. Die Population ist auf Atopie, Ergebnis des Metall-ECT und Metall-LTT untersucht worden. Die Allelhäufigkeiten innerhalb der Studiengruppen und der Subgruppen wurde mittels Fisher's exact test analysiert und die Odds Ratio berechnet.

Folgende Ergebnisse der Allelhäufigkeit der hier ausgewählten drei IL-1 β -Polymorphismen und des IL-1 β RN Intron 2 VNTR wurden in der gesamt Studienpopulation und den Subgruppenanalysen erzielt.

4.2.1 Allelhäufigkeit des IL-1B 3954 Polymorphismus mit Subgruppen-Analyse

Es stellten sich keine signifikanten Unterschiede in den Allelverteilungen der beiden verschiedenen Allele C oder T des IL-1 β -Polymorphismus 3954 dar. Es gab einen leichten Trend des C-Allels öfter in der Kontrollgruppe aufzutreten, insbesondere bei Patienten ohne Atopie, mit negativem Metall-ECT oder negativem Metall-LTT. Es zeigte sich aber kein signifikanter Unterschied in der „Chancen“-Verteilung. Die Ergebnisse des IL-1 β Polymorphismus 3954 sind in Tabelle 14 aufgeführt.

Allele IL-1B 3954		Beschwerdegruppe (n=102)		Kontrollgruppe (n=93)		p (Fisher's exact test)	Odds Ratio [95%CI]
		Allelhäufigkeit (n=204)	[%]	Allelhäufigkeit (n=186)	[%]		
Gesamt	C	184	90.2	174	95.6	0.050	0.423 [0.182-0.985]
	T	86	42.2	72	39.6	0.682	1.113 [0.741-1.672]
Mit Atopie	C	46	92.0	28	93.3	1.000	0.821 [0.141-4.780]
	T	22	44.0	18	60.0	0.254	0.524 [0.209-1.314]
Ohne Atopie	C	134	89.3	146	96.1	0.028	0.344 [0.131-0.905]
	T	62	41.3	54	35.5	0.344	1.279 [0.803-2.035]
Metall ECT pos.	C	46	95.8	24	92.3	0.609	1.917 [0.254-14.465]
	T	18	37.5	12	46.2	0.620	0.700 [0.266-1.842]
Metall ECT neg.	C	138	88.5	150	96.2	0.018	0.307 [0.118-0.985]
	T	68	43.6	60	38.5	0.420	1.236 [0.787-1.943]
Metall LTT pos.	C	52	89.7	32	94.1	0.705	0.542 [0.103-2.748]
	T	30	51.7	18	52.9	1.000	0.952 [0.408-2.223]
Metall LTT neg.	C	94	87.0	106	94.6	0.061	0.380 [0.140-1.029]
	T	46	42.6	38	33.9	0.212	1.445 [0.837-2.495]

Tabelle 14: Allelhäufigkeit des IL-1 β -3954 Polymorphismus einschließlich der Subgruppenanalyse. Die Ergebnisse des Fisher's exact Test- und der Odds Ratio (+ 95% Konfidenzintervall) sind angegeben.

4.2.2 Allelhäufigkeit des IL-1B 31 Polymorphismus mit Subgruppen-Analyse

Der IL-1 β -31 Polymorphismus mit dem Allel T hatte eine signifikant höher Chance in der Kontrollgruppe vorzukommen (84,3% vs. 48%, $p < 0,000001$). Dies könnte einen Hinweis auf einen „schützenden“ Genotyp darstellen, der die immunologische Reaktion auf das Implantat reduzieren könnte. Der Unterschied in den T-Allel-Häufigkeiten war auch in der Subgruppenanalyse zu sehen, wurde aber durch den "Allergiezustand" nicht signifikant beeinflusst. Die Ergebnisse der IL-1 β -31 Allel-Frequenzen sind in Tabelle 15 aufgeführt.

Allele IL-1B 31		Beschwerdegruppe (n=102)		Kontrollgruppe (n=93)		p (Fisher's exact test)	Odds Ratio [95%CI]
		Allelhäufigkeit (n=204)	[%]	Allelhäufigkeit (n=186)	[%]		
Gesamt	T	98	48.0	150	84.3	0.0000052	0.173 [0.106-0.281]
	C	156	76.5	112	62.9	0.005	1.915 [1.228-2.986]
Mit Atopie	T	18	36.0	26	86.7	0.00008	0.087 [0.026-0.288]
	C	42	84.0	18	60.0	0.031	3.500 [1.223-10.015]
Ohne Atopie	T	76	50.7	124	83.8	0.0000092	0.199 [0.116-0.342]
	C	110	73.3	94	63.5	0.081	1.580 [0.965-2.586]
Metall ECT pos.	T	24	50.0	22	91.7	0.001	0.091 [0.019-0.430]
	C	38	79.2	14	58.3	0.093	2.714 [0.932-7.909]
Metall ECT neg.	T	74	47.4	128	83.1	0.0000003	0.183 [0.108-0.310]
	C	118	75.6	98	63.6	0.026	1.774 [1.086-2.900]
Metall LTT pos.	T	24	41.4	30	88.2	0.000008	0.094 [0.029-0.302]
	C	44	75.9	16	47.1	0.007	3.536 [1.433-8.722]
Metall LTT neg.	T	50	46.3	88	81.5	0.000001	0.196 [0.106-0.363]
	C	84	77.8	76	70.4	0.277	1.474 [0.798-2.722]

Tabelle 15: Allelhäufigkeit des IL-1B-31 Polymorphismus einschließlich der Subgruppenanalyse. Die Ergebnisse des Fisher's exact Test- und der Odds Ratio (+ 95% Konfidenzintervall) sind angegeben.

4.2.3 Allelhäufigkeit des IL-1B 511 Polymorphismus mit Subgruppen-Analyse

Es sind keine relevanten Unterschiede in den Allelhäufigkeiten des IL-1B-511 Polymorphismus darstellbar gewesen. Das Allel C wurde tendenziell öfter in der Kontrollgruppe gesehen, es zeigte sich aber kein signifikanter Unterschied.

Die Subgruppenanalyse hatte keinen Einfluss auf die „Chancen“-Verteilung. Die Ergebnisse für den IL-1B-511 Polymorphismus sind in Tabelle 16 aufgeführt.

Allele IL-1B 511		Beschwerdegruppe (n=102)		Kontrollgruppe (n=93)		p (Fisher's exact test)	Odds Ratio [95%CI]
		Allelhäufigkeit (n=204)	[%]	Allelhäufigkeit (n=186)	[%]		
Gesamt	C	150	73.5	158	87.8	0.0005	0.387 [0.225-0.666]
	T	130	63.7	106	58.9	0.346	1.226 [0.812-1.851]
Mit Atopie	C	30	60.0	22	73.3	0.333	0.545 [0.203-1.464]
	T	36	72.0	18	60.0	0.327	1.714 [0.659-4.461]
Ohne Atopie	C	116	77.3	136	90.7	0.003	0.351 [0.180-0.686]
	T	90	60.0	88	58.7	0.906	1.057 [0.667-1.675]
Metall ECT pos.	C	34	70.8	24	92.3	0.040	0.202 [0.042-0.974]
	T	30	62.5	16	61.5	1.000	1.042 [0.390-2.783]
Metall ECT neg.	C	116	74.4	134	87.0	0.006	0.433 [0.240-0.782]
	T	100	64.1	90	58.4	0.351	1.270 [0.803-2.007]
Metall LTT pos.	C	40	69.0	30	88.2	0.044	0.296 [0.091-0.966]
	T	38	65.5	20	58.8	0.655	1.330 [0.556-3.180]
Metall LTT neg.	C	82	75.9	98	87.5	0.035	0.451 [0.221-0.919]
	T	70	64.8	72	64.3	1.000	1.023 [0.589-1.778]

Tabelle 16: Allelhäufigkeit des IL-1B-511 Polymorphismus einschließlich der Subgruppenanalyse. Die Ergebnisse des Fisher's exact Test- und der Odds Ratio(+ 95% Konfidenzintervall) sind angegeben.

4.2.4 Allelhäufigkeit des IL-1RN Intron 2 VNTR Polymorphismus mit Subgruppen-Analyse

Das Allel 498bp des IL-1 Rezeptor Antagonisten (IL-1RN Intron 2 VNTR (rs2234663)) hatte eine erhöhte „Chance“ in der Beschwerdegruppe aufzutreten. In der Kontrollgruppe der 93 symptomfreien Individuen betrug die Allelhäufigkeit des 498bp-Allels 22,8%, in der Beschwerdegruppe (102 Patienten) kam das Allel 498bp bei 49,4% vor. Dieser Unterschied war hoch signifikant ($p < 0,0000005$). Die „Chance“ mit dem 498bp-Allel in die Beschwerdegruppe zu gelangen war mehr als 3fach erhöht (OR:3,3). Im Hinblick auf die anderen Allelhäufigkeiten des IL-1RN Intron 2 VNTR Polymorphismus konnten wir keine Unterschiede finden.

Das Allel 412bp kam am häufigsten vor. Es war auf beide Gruppen relativ gleich verteilt. Die anderen Allele sind relativ gleich verteilt oder werden so selten beobachtet, dass man keine sinnvolle Aussage machen kann.

Interessanterweise erhöhte sich die „Chance“ in der Beschwerdegruppe zu sein bei gleichzeitigem Auftreten des 498bp-Allels und einer Atopie signifikant, d.h. 85,7% in der Beschwerdegruppe und 13,3 % in der Kontrollgruppe ($p = 0.00000001$). Personen mit Atopie und 498bp-Allels hatten eine fast 40x mal (OR: 39) höhere Chance in die Beschwerdegruppe zu kommen.

Es zeigten sich keine weiteren verstärkenden Effekte in der Chancenverteilung abhängig von ECT und LTT-Reaktionen. Die Ergebnisse für den IL-1B RN Intron 2 VNTR sind in Tabelle 17 aufgeführt.

Allele IL-1RN Intron 2 VNTR		Beschwerdegruppe (n=102)		Kontrollgruppe (n=93)		p (Fisher's exact test)	Odds Ratio [95%CI]
		Allelhäufigkeit (n=204)	[%]	Allelhäufigkeit (n=186)	[%]		
Gesamt	240bp	48	27.6	44	28.2	0.903	0.970 [0.599-1.570]
	326bp	6	3.4	6	3.8	1.000	0.905 [0.289-2.865]
	412bp	128	72.7	136	86.1	0.030	0.431 [0.247-0.755]
	498bp	86	49.4	36	22.8	0.0000475	3.312 [2.058-5.331]
	595bp	6	3.4	0	0.0	0.031	0.515 [0.464-0.573]
Mit Atopie	240bp	8	19.0	10	33.3	0.182	0.471 [0.160-1.138]
	326bp	0	0.0	2	6.7	0.170	0.400 [0.300-0.533]
	412bp	30	71.4	28	93.3	0.032	0.179 [0.037-0.870]
	498bp	36	85.7	4	13.3	0.00000001	39.000 [9.990-152.257]
	595bp	2	4.8	0	0.0	0.507	0.571 [0.467-0.700]
Ohne Atopie	240bp	40	31.3	34	27.0	0.491	1.230 [0.715-2.116]
	326bp	6	4.7	4	3.1	0.749	1.525 [0.420-5.536]
	412bp	94	72.3	108	84.4	0.023	0.484 [0.262-0.892]
	498bp	50	39.1	32	25.0	0.022	1.923 [1.126-3.283]
	595bp	4	3.1	0	0.0	0.122	0.492 [0.434-0.558]
Metall ECT pos.	240bp	4	9.1	2	11.1	1.000	0.800 [0.133-4.809]
	326bp	0	0	0	0	n.d.	n.d.
	412bp	34	77.3	18	90.0	0.312	0.378 [0.075-1.913]
	498bp	26	59.1	4	20.0	0.006	5.778 [1.656-20.159]
	595bp	2	4.5	0	0	1.000	0.677 [0.571-0.804]
Metall ECT neg.	240bp	44	33.8	42	30.4	0.601	1.169 [0.700-1.954]
	326bp	6	4.6	6	4.3	1.000	1.065 [0.334-3.388]
	412bp	94	71.2	118	85.5	0.005	0.419 [0.229-0.768]
	498bp	60	46.2	32	23.2	0.0001	2.839 [1.680-4.798]
	595bp	4	3.1	0	0	0.054	0.477 [0.421-0.541]
Metall LTT pos.	240bp	8	16.7	4	14.3	1.000	1.200 [0.326-4.414]
	326bp	4	8.3	0	0	0.290	0.611 [0.508-0.735]
	412bp	38	76.0	26	92.2	0.073	0.244 [0.050-1.180]
	498bp	30	62.5	6	21.4	0.001	6.111 [2.085-17.911]
	595bp	0	0	0	0	n.d.	n.d.
Metall LTT neg.	240bp	30	31.3	32	32.0	1.000	0.966 [0.529-1.764]
	326bp	2	2.1	6	5.9	0.281	0.340 [0.067-1.729]
	412bp	72	75.0	84	82.4	0.227	0.643 [0.323-1.278]
	498bp	44	45.8	24	23.5	0.001	2.750 [1.496-5.055]
	595bp	2	2.1	0	0	0.234	0.480 [0.415-0.555]

Tabelle 17: Allelhäufigkeit des IL-1RN Intron 2 VNTR Polymorphismus einschließlich der Subgruppenanalyse. Die Ergebnisse des Fisher's exact Test- und der Odd Ratio (+ 95% Konfidenzintervall) sind angegeben.

Wenn man die oben beschriebenen Subgruppenanalysen ansieht, dann war die Relation zwischen IL-1RN Intron 2 VNTR und Allel 498bp am auffälligsten als „Risikokonstellation“ für die Zuordnung zur Beschwerdegruppe. Wenn noch eine Atopie des Patienten dazukam, so war die Wahrscheinlichkeit einer beschwerdebehafteten Endoprothetik hochsignifikant größer.

5 Diskussion

Eine mögliche genetisch bedingte Neigung zur Entwicklung von Unverträglichkeitsreaktionen gegenüber Metallimplantaten – speziell Endoprothetik – wird zunehmend diskutiert. Allerdings sind Untersuchungen hierzu durch verschiedene Faktoren erschwert: Die klinischen Symptome sind sehr heterogen (wie Schmerzen, Bewegungseinschränkung, Ergüsse, Lockerung, Ausbildung von Pseudotumoren); zugrundeliegende Pathomechanismen sind nicht immer klar erkennbar (wie z.B. septische / aseptische Lockerung; Aktivierung der unspezifischen oder adaptiven Immunantwort); möglicherweise limitierter Einfluss einzelner Mutationen auf die Krankungsausprägung. Darauf hatten schon 2014 EM Greenfield³² am Beispiel der Reaktion auf Abriebpartikel im Überblick hingewiesen und im Folgejahr SJ MacInnes et al.⁶⁴ bei der Untersuchung zu Kandidatengeneten für „Osteolyseneigung“. Bei den in unserer „Implantatallergie-Sprechstunde“ gesehenen beschwerdebehafteten Patienten bestand auch ein Spektrum an Beschwerden. Für diese Beschwerden waren – anhand der von uns vor Zuweisung erbetenen Differentialdiagnostik - von den zuweisenden Orthopäden kein zugrundeliegender Infekt oder „typische“ Auslöser wie mechanische Ursachen gefunden worden und deshalb die Vorstellung zur Allergiediagnostik erfolgt. Wir selbst haben im Rahmen der Allergiediagnostik keine darüber hinausgehende (orthopädische) Diagnostik durchgeführt. Es ergab sich allerdings die Möglichkeit, nicht nur die beabsichtigte Allergiediagnostik durchzuführen, sondern auch nach einer möglichen erhöhten Entzündungsneigung zu fragen.

5.1 Heterogenität des Patientenguts

Die Patienten mit komplikations-/beschwerdebehafteter Endoprothetik resultierten zwar aus einer konsekutiven Patientenreihe der „Implantatallergie-Sprechstunde“, ergaben aber aufgrund unterschiedlicher eingesetzter Implantatmaterialien/-modelle ein heterogenes Patientengut. Dazu kommt, dass in dieser Gruppe fast ausschließlich „Knieendoprothetik-Träger“ waren im Gegensatz zu etwa 44% „Knie-“ und etwa 56% „Hüftendoprothetik-Trägern“ in der Vergleichsgruppe. Die Implantatlokalisierung beeinflusst schon per se Art und Häufigkeit von Beschwerden. In der Fachliteratur wird nämlich angegeben, dass pauschal etwa 20% der Knieendoprothesen-Patienten - aber nur 5% der Hüftendoprothesen-Patienten mit ihrer Prothese unzufrieden

sind. Knieendoprothesen-Patienten klagen u.a. vergleichsweise häufiger über Bewegungseinschränkung, Schmerzen, schlechteres Zurechtkommen mit den „Aktivitäten des Alltags“ und von ärztlicher Seite werden beispielsweise die komplexere Anatomie des Kniegelenks einschließlich anderer Weichteilführung und komplexere Bewegungsformen als Unterschied angeführt^{4,9,34,47}. Insofern soll diese Ungleichheit zwischen der Gruppe an beschwerdebehafteten Patienten und dem Vergleichskollektiv schon anfangs genannt und auch unter 5.7. (Limitierungen der Untersuchungen) gelistet werden.

5.2 Zytokin (IL-1) Polymorphismus

In den letzten Jahren wurde immer mehr über IL-1 Polymorphismen geforscht. Allerdings meistens im Zusammenhang mit zum Teil entzündlichen Erkrankungen wie Morbus Basedow, Magenkarzinom, rheumatoider Arthritis und Parodontitis, aber auch autoinflammatorischen Syndromen^{18,11,60}. Bei manchen dieser Erkrankungen herrscht in der Literatur Uneinigkeit in wie weit die untersuchten IL-1 Polymorphismen eine Rolle bei der Entstehung der Krankheiten spielen.

In dem Bereich der Implantate wurde eine mögliche Rolle der IL-1 Polymorphismen vor allem im Zusammenhang mit Zahnimplantaten untersucht^{26,50}. Allerdings sind die Ergebnisse aus den Zahnimplantat-Studien nicht einfach auf Hüft- und Knieimplantate übertragbar, da der Mund kein „geschlossenes System“ ist und physiologisch mit verschiedenen Bakterien interagiert. Bisher sind uns keine Daten über IL-1 Polymorphismen in Zusammenhang mit Knie- und Hüftendoprothesen-Unverträglichkeit bekannt.

Die in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismen werden immer wieder mit einer verstärkten Entzündungsreaktion in Verbindung gebracht. Deshalb stellte sich die Frage, in wie weit diese Polymorphismen eine Rolle in der Hüft- und Knieimplantat-Unverträglichkeit spielen könnten. Wir gingen davon aus, dass „Zytokinpolymorphismen“ zwar personengebunden sind aber nicht vom verwendeten Implantattyp / Knochenzement abhängen – und wir mit den im Material/Methodik- wie auch Ergebnisteil und unter 5.7. genannten Einschränkungen doch Aussagen machen könnten.

In der vorliegenden Studie sind folgende IL-1 Polymorphismen untersucht worden: IL-1B-3954 (rs1143634), IL-1B-31 (rs1143627), IL-1B-511 (rs16944), IL-1RN Intron 2 VNTR (rs2234663).

In dieser Arbeit wurden die Gene untersucht, die für die Zytokine IL-1 β und für dessen Antagonisten, IL-1 Rezeptor-antagonist, kodieren. Wie bereits erwähnt, ist IL-1 β ein proinflammatorisches Zytokin. Die Dysregulation dieses Zytokins bzw. des Antagonisten kann die Ursache für eine verstärkte Entzündungsantwort sein und somit der Auslöser verschiedener Krankheiten^{22,41}. Diese Dysregulation kann unter anderem durch Polymorphismen ausgelöst werden.

Wie anfangs bereits erwähnt, ist ein Polymorphismus eine Genvariation, die in mehr als 1% der Bevölkerung vorkommt. Abhängig von der Lokalisation der veränderten Basensequenz handelt es sich um einen funktionellen oder nicht funktionellen Polymorphismus. Wenn die Genvariation im Exon oder sogar in der Nähe der Promoter-Region liegt, handelt es sich um einen funktionellen Polymorphismus. Abhängig von der Lage wird entweder die Expressionsstärke des zu kodierenden Proteins oder die Molekularstruktur beeinflusst, teilweise kann es aber auch zu einem vollständigen Funktionsverlust kommen. Wenn die Genvariation im nicht kodierenden Teil des Genom auftritt, handelt es sich um einen nicht funktionellen Polymorphismus^{79,107}. Der erste beschriebene Polymorphismus war derjenige der ABO-Blutgruppen. Die Beobachtung wurde von Landsteiner 1900 berichtet¹⁰⁷.

Die untersuchten Polymorphismen des IL-1 β und IL-1RN liegen relativ nahe zusammen auf dem langen Arm des Chromosom 2 in dem Bereich q12-q21. Sie kodieren für die Zytokine IL-1 β und IL-1-Rezeptorantagonist⁷⁰. Für das IL-1 β wurden drei Polymorphismen untersucht. Zum einen IL-1 β -3954 (rs1143634), welches auf dem Exon 5 des Chromosoms 2 liegt. Bei diesem Polymorphismus wird die Verschiebung von C zu T in in-vitro Studien mit einer erhöhten IL-1 β Produktion in Verbindung gebracht⁷⁷. Der IL-1 β -31 (rs1143627)-Polymorphismus befindet sich in der Nähe der TATA Box Region des IL-1 β Promotors und im Kopplungsgleichgewicht mit IL-1 β -511 (rs16944)²⁶. Das Allel T des IL-1 β -31 (rs1143627)-Polymorphismus wird mit einer erhöhten IL-1 β Produktion in Verbindung gebracht und zählt somit zu den funktionellen Polymorphismen¹⁰⁹. Über die Funktion des IL-1 β -511 (rs16944) Polymorphismus gibt es nicht viele Daten. 1998 zeigten Santtila S. et al., dass das Allel T des IL-1 β -511 (rs16944) mit einer leicht erhöhten Produktion des IL-1 β einhergeht, allerdings wurde kein signifikanter Unterschied beschrieben⁸³.

Der Polymorphismus des untersuchten IL-1 Rezeptorantagonisten liegt auf dem Intron 2 und besteht aus sich wiederholenden 86bp langen DNA-Abschnitten. Je nach Anzahl der Wiederholungen werden die Allele benannt (Allel 1: 412 bp (4 Wiederholungen), Allel 2: 240 bp (2

Wiederholungen), Allel 3: 498 bp (5 Wiederholungen), Allel 4: 326 bp (3 Wiederholungen), Allel 5: 584 bp (6 Wiederholungen))⁹⁴. Das Allel 1 mit 412 bp ist das am häufigsten vorkommende Allel, gefolgt von dem Allel 2 mit 240 bp^{71,94}. Deswegen wird in der Literatur fast ausschließlich über das Allel 1 und Allel 2 berichtet. So haben Danis VA. et al. 1995 beschrieben, dass das Allel 2 des IL-1RN bei in vitro Versuchen mit einer erhöhten Produktion des IL-1 Rezeptorantagonisten einhergeht aber keine Assoziation zur IL-1 β Produktion hat¹⁸. Allerdings haben Santtila et al. 1998 beschrieben, dass es bei Anwesenheit des Allel 2 zu einer erhöhten Produktion von IL-1 β kommt⁸³, somit handelt es sich auch bei dem IL-1RN Intron 2 VNTR (rs2234663) Polymorphismus um einen funktionellen Polymorphismus. Allerdings werden in der Literatur unterschiedliche Funktionen beschrieben^{18,83}. Über die Allele 3, 4 und 5 findet man so gut wie keine Daten.

5.3 Polymorphismen in der Literatur und Vergleich mit unseren Ergebnissen (in Assoziation mit diversen Erkrankungen)

5.3.1 IL-1B-3954 (rs1143634)

In der Literatur wird der IL-1B3954 Polymorphismus immer wieder im Zusammenhang mit vielen verschiedenen Erkrankungen untersucht, unter anderem mit dem Auftreten von Magenkarzinomen bzw. in Zusammenhang mit *Helicobacter pylori* Infektionen, aber auch mit Periodontitis oder mit Zahnimplantat-Unverträglichkeit.

El-Omar et al. beschrieben einen am ehesten protektiven Zusammenhang zwischen dem IL-1B-3954 Polymorphismus Genotyp TT und dem Auftreten eines Magenkarzinoms. Der Genotyp IL-1B-3954 homozygot „TT“ scheint eher protektiv zu sein²⁶.

Hacker et al. 2008 haben keinen Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen gesehen³⁵.

Ramis et al. haben keine Korrelation zwischen dem IL-1B-3954 Polymorphismus und *Helicobacter pylori* Infektion und dem Risiko für schwere Magenerkrankungen (Gastritis) gesehen⁷⁸.

Es gibt einige Studien die einen Zusammenhang zwischen dem IL-1B-3954 Polymorphismus und Periodontitis sehen. Korman et al. 1997 haben z.B. einen signifikanten Zusammenhang zwischen einer Genotyp Kombination (IL-1A 889 Allel 2 und IL-1B 3953 Allel 2) und einer schweren Periodontitis (p-Wert 0,002)⁵⁰ im Vergleich zu einer milden Parodontitis bei Nichtrauchern nachgewiesen. Für die einzelnen Polymorphismen wurde kein signifikanter

Zusammenhang mit der Periodontitis gesehen⁵⁰. Dem gegenüber haben Parkhill et al. (2000) bei Probanden aus UK mit dem IL-1B 3954 Genotyp 1/1 (CC) eine erhöhte Anfälligkeit für eine früh auftretende Periodontitis gesehen ($p=0,025$)⁷⁵. Des Weiteren haben Lavu et al. 2015 einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem IL-3953 Genotyp CT und chronischer Periodontitis gefunden (p -Wert=0,007), diese Signifikanz verstärkt sich, wenn Genotyp CT und TT gleichzeitig vorkommen (p -Wert=0,006)⁵⁶.

In einem Systematic Review von Dereker et al. von 2012²¹ zeigte sich ein potentieller Zusammenhang für den IL-1B 3954 Polymorphismus und Zahnimplantatversagen.

Im Gegensatz zu den erwähnten Studien wurde in der hier vorliegenden Studie kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem IL-1B-3954 und Endoprothesenbeschwerden gefunden, allerdings wurde das Allel C nach Stratifikation bei Probanden ohne Atopie mit negativem Metall ECT und LTT etwas häufiger in der Kontrollgruppe gesehen.

5.3.2 IL-1B-31 (rs1143627) und IL-1B-511 (rs16944)

El-Omar et al. haben bereits 2000 IL-1B-31 TT und IL-1RN2 als proinflammatorischen Genotypen beschrieben, welche das Risiko für ein Magenkarzinom erhöhten, und zwar auf Grund von erhöhter IL-1 β Produktion²⁶.

Ramis et al. haben 2015 einen signifikanten Zusammenhang bei Patienten mit einer Helicobacter pylori Infektion und dem IL-1B-31 Genotyp CC und IL-1B-511 Genotyp TT gesehen. Bei diesen Patienten ist das Risiko für ein Magenkarzinom erhöht. Die Anwesenheit dieser Genotypen vermehrt die IL-1 β Produktion und vermindert somit die Magensäureproduktion. So kann es zu einer gesteigerten Entzündungsantwort durch Helicobacter pylori kommen⁷⁸.

Der IL-1B 31 Polymorphismus mit dem Allel T und dem Genotyp TT wird auch in Zusammenhang mit therapieresistentem M. Basedow⁴⁰ und primärer Immunthrombozytopenie¹¹⁰ beobachtet.

Im Gegensatz dazu haben wir in der hier vorliegenden Studie das Allel T des IL-1B 31 Polymorphismus signifikant häufiger in der Kontrollgruppe gesehen, was am Ehesten für einen protektiven Effekt spricht. Dieser Effekt war auch in der Untergruppenanalyse sichtbar, allerdings ohne signifikanten Unterschied.

Ibrahim et. al. haben den Genotyp CC und das Allel C des IL-1B 31 Polymorphismus signifikant häufiger bei Patienten mit Mittelmeerfieber gesehen im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe⁴³.

Auch wir haben Hinweise, dass das Allel C des IL-1B 31 Polymorphismus verstärkt bei Personen mit beschwerdebehafteten Endoprothesen vorkommt. Das Allel C des IL-1B 31 Polymorphismus ist in unserer Untersuchung tendenziell häufiger in der Beschwerdegruppe zu sehen. Dieser Effekt verstärkt sich nach Stratifikation bei Personen mit Atopie, positivem Metall-ECT und LTT (OR: 3,5/2,7/3,5). Dies könnte darauf hinweisen, dass das Allel C des IL-1B 31 Polymorphismus besonders bei Atopikern und Metallallergikern eine Entzündung triggert und damit zu erhöhter Endoprothesenunverträglichkeit führt. Allerdings haben wir dafür keine signifikanten Daten in der vorliegenden Untersuchung gesehen. Dementsprechend müsste diese Beobachtung anhand weiterer Studien mit größerer Population untersucht werden.

Meulenbelt et al. haben einen Zusammenhang zwischen dem Allel T des IL1B 511 Polymorphismus und radiologischen Zeichen einer Osteoarthritis zeigen können⁶⁶.

Eine Metanalyse aus der Zahnmedizin von 2015 hat keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem IL1B 511 Polymorphismus und chronischer Periodontitis gesehen¹¹³. Auch in der Untersuchung von Yadav et al. konnte kein Zusammenhang zwischen dem IL1B 511 Polymorphismus und der primären Immunthrombozytopenie¹¹⁰ dargestellt werden.

Auch in der vorliegenden Untersuchung wurde kein Zusammenhang zwischen dem IL1B 511 Polymorphismus und Endoprothesen-Unverträglichkeiten beobachtet.

5.3.3 IL-1RN Intron 2 VNTR (rs2234663)

Der IL-1RN wird hauptsächlich bei Krankheiten mit chronischer Entzündung beschrieben, das Genprodukt, der IL-1 Rezeptorantagonist bindet IL-1 α und β und wirkt so der Entzündung entgegen. Die meisten Daten gibt es über den IL-1RN Intron 2 Allel 2. Allerdings ist die Literatur sich nicht einig, welche Funktion der IL-1RN Polymorphismus hat. Danis et al. 1995 haben eine erhöhte IL-1 Rezeptorantagonist Produktion gesehen, aber keinen Zusammenhang mit der IL-1 β Produktion¹⁸. Im Gegensatz dazu haben Satilla et al. 1998 eine erhöhte IL-1 β Produktion beschrieben⁸³.

Wie oben bereits erwähnt, wird der IL1RN Allel 2 mit einem erhöhten Risiko für Magenkarzinome in Verbindung gebracht²⁶. Auch Glas et al. haben einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Allel 2 des IL1RN Polymorphismus und einer Frühform des Magenkarzinoms zeigen können³⁰.

Hacker et al. 1998 haben keinen Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen beobachtet³⁵.

Parkhill et al (2000) haben den IL1 Rezeptorantagonist im Zusammenhang mit Periodontitis untersucht und keine Assoziation zwischen dem IL-1 Rezeptorantagonist und Periodontitis beschrieben⁷⁵.

Es gibt einige Studien, in denen der Zusammenhang zwischen dem IL-1RN Polymorphismus und Implantatversagen bei Zahnimplantaten untersucht wurde. Campos et al. (2005) haben weder einen Zusammenhang zwischen dem IL-1RN Polymorphismus und dem frühen Zahnimplantatversagen noch zwischen anderen IL-1B Polymorphismen (IL-1B-3954, IL-1B-511)¹² gezeigt. Eine weitere Studie von Montes et al. (2009) zeigte auch keinen signifikanten Zusammenhang zwischen IL-1RN Polymorphismus und IL-1B 3954 bei Patienten mit Zahnimplantatverlust. Allerdings wurde ein signifikant häufigeres Auftreten des Genotyp 2/2 des IL-1RN Polymorphismus bei Patienten mit multiplem Implantatverlust im Gegensatz zu Einzelimplantatverlust (p-Wert 0,027)⁶⁷ beobachtet.

Yadav et al. haben 2017 einen signifikanten Zusammenhang zwischen der primären Immunthrombozytopenie und dem IL-1RN Polymorphismus Allel 2 gesehen¹¹⁰. Auch Meulenbelt et al. haben einen signifikanten Zusammenhang zwischen IL-1RN Polymorphismus Allel 2 und radiologischen Zeichen einer Osteoarthritis beschrieben.

Im Gegensatz zu den erwähnten Studien wurde in der hier vorliegenden Untersuchung das 498bp (Allel 3) signifikant (LRT p-Wert von 0,0000475) häufiger in der Beschwerdegruppe gesehen (OR 3,3). Die Chance mit diesem Allel in der Beschwerdegruppe zu sein, steigt deutlich bei Personen mit Atopie (OR 39,0), aber auch bei Metall ECT und LTT positiven Personen (OR 5,7/6,1).

Padrón-Morales et al. (2013) und Pattaro et al. (2006) haben einige IL-1 β Polymorphismen im Zusammenhang mit Atopie untersucht aber nicht den von uns untersuchten IL-1RN Intron 2 VNTR Polymorphismus^{74,76}. Uns ist eine Arbeit bekannt, die unter anderem den IL-1RN Intron 2 VNTR Polymorphismus bei Atopikern untersucht hat. Reichel et al. haben 2003 bei 94 Neurodermitis-Patienten verschiedene Polymorphismen studiert, unter anderem den IL-1RN Intron 2 VNTR Polymorphismus. Sie haben keinen statistischen Zusammenhang zwischen den untersuchten Polymorphismen und der Neurodermitis zeigen können⁸⁰.

Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen haben Ertam et al. 2009 bei Personen mit einer Kontaktallergie das Allel 240 (Allel 2) signifikant häufiger gesehen als in der Kontrollgruppe²⁷. Allerdings war der signifikante Unterschied nur zu sehen, wenn alle Kontaktallergene zusammengekommen wurden. Bei den einzelnen Allergien (z.B. gegen Nickel, Chrom, Kobalt...) wurde

kein signifikanter Unterschied im Zusammenhang mit dem IL-1RN Intron 2 VNTR Polymorphismus beschrieben²⁷.

In der gesamten Studienpopulation wurde das Allel 412bp (Allel 1) am häufigsten beobachtet, allerdings war dieses Allel relativ gleich auf die Gruppen verteilt. Dies wurde auch in den oben genannten Studien gesehen^{71,94}. Das zweithäufigste Allel in der gesamten Studienpopulation ist 498bp (Allel 3), was den bereits publizierten Daten widerspricht^{71,94}. In den bereits veröffentlichten Studien wird 240bp (Allel 2) am zweithäufigsten gesehen und 498bp (Allel 3) wird sehr selten beobachtet^{71,94}. Das Allel 240bp (Allel 2) war in unserer Studienpopulation das dritthäufigste Allel und ist in beiden Gruppen ungefähr gleich häufig gesehen worden. Es scheint bei unserem untersuchten Patientengut somit keinen Einfluss auf eine Endoprothesenunverträglichkeit zu haben, was im Widerspruch zu der Studie an Dentalimplantat-Trägern von Montes et al. (2009) steht⁶⁷. Man kann diese Daten von Zahnimplantat-Trägern nicht einfach mit unseren untersuchten Endoprothetik-Patienten vergleichen: Es handelt sich um unterschiedliche Kompartimente/ Umfeldbedingungen, andere Bevölkerung (Studie an brasilianischen Zahnimplantat-Träger) sowie teilweise unterschiedliche Materialien.

Unsere Beobachtung weist darauf hin, dass das Allel 498bp ein Risikofaktor für eine Endoprothesenunverträglichkeiten sein könnte und das Risiko bei Atopikern und Metallallergikern mit diesem Polymorphismus zusätzlich erhöht ist. Dies muss durch weitere Studien mit größeren Populationen bestätigt werden.

5.4 Endoprothesenunverträglichkeit und Metallallergie

In dieser Studie wurde auch untersucht, ob Typ-IV-(Spättyp) Allergien Einflussfaktoren für eine beschwerdebehaftete Endoprothetik/ Endoprothesenunverträglichkeit sein können. An allen in dieser Studie untersuchten Personen ist auch ein ECT und ein LTT durchgeführt worden. Bei diesem ECT ist immer die Standardreihe (enthält Präparationen zu den Metallen Nickel, Chrom und Kobalt), Standardreihe Ergänzung, sowie die Ergänzungsreihe mit zusätzlichen Implantatmetallen getestet worden. Wenn die Endprothese zementiert war, wurden auch Knochenzement-Bestandteile getestet. Es wurde immer ein erweiterter ECT mit einer Spätablesung am 6. Tag durchgeführt, um eine verzögerte Spättypreaktion nicht zu übersehen. Im LTT wurde getestet, ob eine erhöhte Lymphozyten-Reaktion auf Nickel, Chrom oder Kobalt in vitro zu sehen ist. Der LTT sollte zusätzlich eine systemische Spättyp-Sensibilisierung hinterfragen.

5.4.1 ECT

Wie in der Einleitung bereits erwähnt, können Abriebpartikel und Metallionen aus den Endoprothesen einen Hapten-ähnlichen Komplex bilden und werden so vom Immunsystem als Antigen erkannt und können nach erfolgter Sensibilisierung eine Typ IV Reaktion nach Coombs und Gell auslösen¹⁰. Allerdings ist nicht abschließend geklärt, ob man im periprothetischen Gewebe denselben Pathomechanismus wie an der Haut annehmen kann^{36,103} bzw. ob bei kutaner Metallallergie auch immer eine Überempfindlichkeit auf dieses Metall periimplantär auftritt.

Thomas et al. (2013) untersuchten 187 beschwerdebehaftete Knieendoprothesenträger im Vergleich zu 47 beschwerdefreien Knieendoprothesenträgern. Hier wurde in der Beschwerdegruppe bei 16% eine positive Reaktion auf einen Nickel-ECT gesehen, im Vergleich dazu waren in der Kontrollgruppe nur – aber immerhin doch - 6,4% der getesteten Personen positiv auf Nickel. Auch eine Chrom-Allergie wurde vermehrt in der Beschwerdegruppe gesehen (3,2% vs. 0%)⁹⁹. Auffällig bei Thomas et al. (2013) ist, dass deutlich mehr Nickel- und Chromallergiker in der Beschwerdegruppe zu finden sind als in der Kontrollgruppe⁹⁹ – dies aber nicht „1:1“ mit dem Problemauslöser am Gelenk gleichzusetzen ist.

Diese Tendenz kann in der hier vorliegenden Arbeit bestätigt werden. Wir haben im ECT 19,6% Nickel positive Reaktionen in der Beschwerdegruppe gesehen, in der Kontrollgruppe waren es nur 9,7%. Bei Kobalt und Chrom ist eine ähnliche Tendenz zu sehen. In der Beschwerdegruppe wurden 6,9% bzw. 2,0% positiv auf Kobalt und Chrom getestet, in der Kontrollgruppe waren es 3,2% bzw. 1,1%. Aus diesen Beobachtungen stellt sich die Frage ob Personen mit einem positiven ECT auf Nickel, Kobalt und Chrom vermehrte Endoprothesenunverträglichkeiten entwickeln, ob bereits eine Metallallergie vor Implantation vorlag oder ob durch die eingesetzte Endoprothese eine Allergie auf Nickel, Kobalt und Chrom getriggert wird. Um diese Fragen zu klären müsste eine prospektive Studie konzipiert werden, die präoperative Daten und postoperative Verlaufsdaten beurteilt. Hierzu sind in der Literatur unterschiedliche, teils widersprüchliche Daten zu finden. Frigerio et al. 2011 haben bei Patienten vor und nach einer Endoprothesen-Implantation einen ECT und LTT durchgeführt. Hierbei wurde festgestellt, dass vor der OP weniger Patienten eine Metallsensibilisierung im ECT hatten (23%), ein Jahr nach der OP hatten 29% der Patienten eine Metallsensibilisierung²⁹. Ähnliche Daten haben Granchi et al. 2008³¹ und Krecisz et al.⁵¹ gezeigt. Diese Daten sprechen für die Theorie, dass Endoprothesen eine Metallsensibilisierung und somit auch eine Metallallergie bei manchen Patienten

triggern könnten.

Allerdings gibt es auch andere Studien, die vor und nach Endoprothesenimplantation nicht so deutliche oder keine Unterschiede in der Allergieverteilung gesehen haben. Duch et al. 1998 konnten keinen Anstieg der Metallallergierate bei Endoprothesenträgern feststellen²⁴. Carlsson et al. 1989 haben 18 Personen beobachtet, bei welchen vor Implantation der Endoprothese ein ECT gemacht wurde und bei denen dann Implantate verwendet wurden, auf deren Legierungsmetalle vorab eine positive Reaktion im ECT bestanden hatte. Trotz der gefundenen kutanen Metallallergie entwickelte keiner der Probanden Beschwerden¹³. Diese Daten zeigen, dass nicht alle Personen mit einer Metallallergie auch eine Endoprothesenunverträglichkeit entwickeln. Welche weiteren Faktoren hier „bahnend“ wirken, muss noch weiter untersucht werden. Meist werden Endoprothesen gut vertragen.

5.4.2 LTT

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, kann der LTT über eine induzierte T-Zell Proliferation in vitro anzeigen, ob eine Sensibilisierung gegen das hinzugefügte Antigen besteht. Eine Aussage über die systemische Sensibilisierung muss aber in Relation zur Methodenevaluierung erfolgen. In unserem Labor wird, wie es vom RKI empfohlen ist, ein Stimulationsindex-Wert (SI-Wert) größer / gleich 3 als erhöhte Proliferationsantwort angesehen²⁵. Weiterhin wurden Evaluierungsversuche durchgeführt und publiziert⁸⁹. Der LTT macht nur eine Aussage über die Sensibilisierung⁹². Ein positiver LTT heißt nicht, dass es sich um eine krankmachende Überempfindlichkeitsreaktion handelt, deswegen darf der LTT als wissenschaftlicher Ansatz nicht überbewertet werden und muss immer in Zusammenschau mit der Klinik und den anderen klinischen Test gewertet werden⁹⁸. Der LTT stellt nur einen Ergänzungsschritt in der Allergiediagnostik dar²⁵.

Thomas et al. (2013) untersuchte bei 200 beschwerdebehafteten Endoprothesenträger im Vergleich zu 100 beschwerdefreien Endoprothesenträger die LTT Reaktion. Hier wurde ein signifikanter Unterschied beobachtet (p-Wert <0,01). Es wurden signifikant häufiger positive LTT-Reaktionen in der Beschwerdegruppe gesehen. Insgesamt wurden die meisten positiven Reaktionen für Nickel beschrieben⁹⁹.

In der vorliegenden Studie wurde eine ähnliche Beobachtung gemacht. Insgesamt wurden in der Beschwerdegruppe 34,2% positive LTT Reaktionen beobachtet, 28,4% waren davon positiv auf Nickel. In der Kontrollgruppe wurden insgesamt 20,5% positive Reaktionen gesehen, davon

waren 19,4% positiv auf Nickel. Diese Verteilung ist sehr ähnlich zu den Ergebnissen von Thomas et al. 2013. Da in der Kontrollgruppe auch positive LTT- Reaktionen beobachtet wurden, bestätigt dies die Empfehlung vom RKI und der Aussage von Thomas et al., dass der LTT keine Aussage über eine klinisch manifeste Allergie machen kann, aber als diagnostisches Zusatz-Hilfsmittel dient^{99 25}. Auch Summer et al. haben die LTT Reaktion bei beschwerdebehafteten und beschwerdefreien Endoprothesenträgern verglichen. Es wurden 10 Patienten ohne Endoprothese (5 mit Nickelallergie, 5 ohne Nickelallergie) und 10 Endoprothesenträger mit Nickelallergie (5 mit Endoprothesenbeschwerden, 5 ohne Beschwerden) verglichen. In der Gruppe der Endoprothesenträger mit Beschwerden wurden höhere SI-Werte beschrieben als in der beschwerdefreien Gruppe sowie eine unterschiedliche Zytokinexpression *in vitro*⁹¹.

Auch Hallab et al. (2005) haben bereits vor Jahren eine erhöhte Metallsensibilisierung bei Endoprothesenträgern im LTT gesehen. Allerdings wurden in dieser Studie SI-Werte >2 als Zeichen einer Sensibilisierung gewertet und nicht wie vom RKI empfohlen SI- Werte >3. In dieser 2005 veröffentlichten Studie wurden 3 Gruppen untersucht. Eine Kontrollgruppe mit gesunden Probanden, unterteilt in eine Gruppe mit jungen gesunden Probanden ohne Implantat und eine Gruppe mit gesunden Probanden ohne Implantat aber altersentsprechend zu den Gruppen 2 und 3. Die zweite Gruppe, eine Osteoarthritisgruppe mit Allergie-Vorgeschichte und ohne Allergie-Vorgeschichte und die dritte Gruppe mit totaler Hüftendoprothese mit keiner bis milder Osteolyse und schwerer Osteolyse. Allerdings wurde nicht erhoben, ob es sich um beschwerdefreie oder beschwerdebehaftete Probanden handelt. Auffällig ist, dass in der Patientengruppe mit Endoprothese mehr positive Reaktionen auf Chrom als auf Nickel gesehen wurden. Dies steht im Gegensatz zu unseren Daten³⁷ – ist aber aufgrund methodischer Unterschiede nicht gut vergleichbar. Wir haben vor allem positive Reaktionen auf Nickel gesehen. Dies könnte einerseits zu der Epidemiologie der Nickelallergie in der Allgemeinbevölkerung passen und andererseits gegebenenfalls einen Selektionsbias bedeuten. Letzterer könnte daher kommen, dass Patienten mit anamnestischem Verdacht auf kutane Metall-(Nickel-) Allergie bei komplikationsbehafteter Endoprothetik eher in der „Implantatallergie-Sprechstunde“ vorgestellt werden.

Die Angabe der kutanen Metallunverträglichkeit (KUM) wurde sowohl in der vorliegenden Studie wie auch in der von Thomas et al. 2013 untersucht. Diese Angaben wurden mittels Fragebogen erhoben, hier wurde gefragt, ob die getesteten Personen auf Metalle an der Haut reagieren z.B. auf Uhrarmbänder, Jeansknöpfe oder Modeschmuck. Wir haben einen größeren Unterschied bei der Verteilung gesehen als Thomas et al. 2013⁹⁹. Bei uns haben 24,5% in der

Beschwerdegruppe und 9,7% in der Kontrollgruppe eine KMU angegeben. Insofern passt dies zu der oben gemachten Vermutung. Bei Thomas et al. (2013) ist der Unterschied ähnlich, d.h. 25,7% in der Beschwerdegruppe und 12,8% in der beschwerdefreien Gruppe⁹⁹. Diese Beobachtungen passen sehr gut mit der höheren positiven ECT und LTT-Rate in der Beschwerdegruppe zusammen, denn die KMU kann die klinische Manifestation einer kutanen Metallallergie bedeuten. Allerdings ist in mehreren Studien – beispielhaft in jener von Josefson et al.⁴⁸ gezeigt worden, dass die vom Patienten anamnestisch über seine Beschwerden vermutete „Nickel-Allergie“ oft nicht vorliegt. Josefson et al. fanden hier einen „positive predictive value“ (PPV) von Anamnese zu identifizierbarer Nickelallergie von knapp über 50%. Die kausale Verknüpfung dieser berichteten „KMU“ mit „Implantatunverträglichkeit“ kann also noch weniger gemacht werden als jene zwischen verifizierter Metallallergie und „Implantatunverträglichkeit“.

5.5 Endoprothesenunverträglichkeit und Atopie

Des Weiteren wurde untersucht, ob es eine Korrelation zwischen Atopikern (Personen mit Heuschnupfen, Asthma und/oder Neurodermitis, d.h. vornehmlich Typ-I-Allergie) und möglicher Endoprothesenunverträglichkeiten gibt. Thomas et al. hatten bei einem früheren Kollektiv der Implantatsprechstunde 2013 23,5% Atopiker in der Beschwerdegruppe beschrieben⁹⁹. In der beschwerdefreien Vergleichsgruppe wurden 19,1% Atopiker gefunden⁹⁹. In der hier vorliegenden Arbeit ist die Verteilung ähnlich. Wir haben in der Beschwerdegruppe 24,5% Atopiker, in der Kontrollgruppe wurden dagegen nur 16,1% Atopiker gesehen. Im Detail zeigten sich in der Beschwerdegruppe 18,7% Personen mit Heuschnupfen und 12,7% mit Asthma, in der Kontrollgruppe 11,8% mit Heuschnupfen und 5,4% mit Asthma. Dies zeigt, dass - abgesehen von den Unterschieden zwischen Kontrollgruppe und Beschwerdegruppe – die Atopikerrate ähnlich wie in einem süddeutschen Kollektiv (siehe MONICA/KORA-Studie⁸⁵) ist. Personen mit einer Atopie sind somit häufig auch unter den Endoprothesenträgern zu finden und möglicherweise vermehrt in der Beschwerdegruppe, wobei ein möglicher Selektionsbias bei der Sprechstundenvorstellung ist nicht ganz ausschließbar – vermutlich hat aber noch am ehesten die Angabe einer „KMU“ dies unterstützt. Zumindest muss festgehalten werden, dass es keine kausale Verknüpfung bzw. keine „überzufällige“ Assoziation zwischen (Nickel)Kontaktallergie und Atopie gibt. Hierzu wurden viele Studien durchgeführt, die beispielhaft in der Übersichtsarbeit von Spiewak R.⁸⁸ genannt sind.

5.6 Endoprothesenunverträglichkeit und Beschwerden mit Zahnmaterial

Uns ist nur eine Untersuchung bekannt, in der die fragenbogengestützte Anamnese bei Patienten mit Endoprothesenunverträglichkeit parallel auch Fragen nach Beschwerden durch Zahnmaterialien enthält. In jener Untersuchung hatten 87,7% der Beschwerdepatienten (Knieendoprothesenträger) künstliches Zahnmaterial, und davon hatten 9,1% Beschwerden mit dem künstlichen Zahnmaterial angegeben. In der beschwerdefreien Gruppe hatten 93,6% künstliche Zahnmaterialien, aber keiner hatte Beschwerden damit⁹⁹. In unserer aktuellen Studie hatten 94,1% der Beschwerdegruppe künstliche Zahnmaterialien und 15,7% haben Beschwerden mit den Zahnmaterialien angegeben. In der Kontrollgruppe hatten 84,5% künstliche Zahnmaterialien und wie bei der 2013 veröffentlichten Untersuchung hatte wiederum kein Patient Beschwerden damit. Diese Beobachtung könnte auf eine erhöhte Entzündungsbereitschaft der Beschwerdegruppe gegenüber „Fremdmaterialien“ deuten.

5.7 Limitierungen der Arbeit

Unsere Untersuchung weist auch einige Schwächen auf, die wir größtenteils schon vorab im Text erwähnt haben: Die beiden verglichenen Kollektive haben zwar jeweils Endoprothetik – aber a) in der Gruppe der beschwerdebehafteten Patienten überwiegen deutlich Knieendoprothesenträger (also jene Patienten die per se schon eine niedrigere Zufriedenheit mit ihren Implantaten haben) und b) es sind über die konsekutive Patientenreihe auch unterschiedliche Herstellermodelle der Implantate eingeflossen. Idealerweise hätte für alle Patienten vorab ein identisches orthopädisches Untersuchungsprogramm für die Beschwerdepatienten vorliegen sollen – wir haben hier auf die differentialdiagnostische Vorarbeit (zum Ausschluss konventioneller Beschwerdeursachen) der zuweisenden Kollegen vertraut. Zudem hätten konsequenter Befundkopien von den zuweisenden Ärzten nachgefordert werden müssen. Im Rahmen der Allergiediagnostik haben wir keine ergänzenden orthopädischen Untersuchungen gemacht und über die Fragebogen-gestützte Anamnese natürlich auch viele „subjektiv“ von den Patienten eingestufte Informationen erhalten. Da leider Konsens- und Leitlinien-Publikationen zum Thema „Metallimplantatallergie“ praktisch fehlen, war beispielsweise die Befundinterpretation der Allergietestergebnisse im Hinblick auf „Hinweis auf Implantatallergie“ subjektiv. Eine Nachverfolgung der Patienten hätte zusätzliche Informationen geliefert (wie zur Frage „endgültige“ orthopädische Diagnose z.B. nach erfolgter Revisionsoperation, klinischer Verlauf falls „hypoallergenes Material eingesetzt wurde oder konservativ behandelt wurde).

Dementsprechend nehmen wir die in dieser Arbeit erstmals gestellte Frage zu möglichen „IL-1“-Polymorphismen in Relation zu beschwerdebehafteter Endoprothetik und deren Ergebnisse zum Anlass, gefundene Unterschiede und Einschränkungen der Arbeit als Ausgangspunkt für eine zu planende Verifikationsstudie heranzuziehen.

6 Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden insbesondere Zytokinpolymorphismen in Blutproben von Personen mit aseptischer Implantatunverträglichkeit (Knie-, Hüftimplantate) untersucht. Die Beschwerdegruppe (102 Personen) wurde aus der Implantatallergie-Sprechstunde der Dermatologischen Klinik der LMU München rekrutiert. Die Kontrollpersonen (93 beschwerdefreie Endoprothesenträger) stammen aus der Orthopädischen Klinik Rummelsberg, aus der Orthopädischen Klinik der Technischen Universität München und aus der Orthopädischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität.

Bei den Studienteilnehmern wurden durchgeführt: eine Fragebogen-gestützte Anamnese (mit Fragen u.a. zu Art der Beschwerden und Atopie); ein ECT und ein LTT. Weiterhin wurde aus den Blutproben DNA isoliert und mittels PCR vervielfältigt. Es wurden 4 Polymorphismen untersucht: IL-1B-3954, IL-1B-511, IL-1B-31, IL-1RN Intron 2 VNTR. Danach wurden die IL-1 β Polymorphismen im Restriktionsverdau mit den spezifischen Enzymen geschnitten. Da der IL1 Rezeptorantagonist eine Mini-Satelliten DNA ist, entstehen hier bereits während der PCR unterschiedlich lange DNA Stücke, somit ist hier kein Restriktionsverdau nötig. Die unterschiedlich langen Basenpaare, die durch den Restriktionsverdau entstanden, wurden in der Gelelektrophorese sichtbar gemacht.

Es wurde die Gruppen-Zugehörigkeit der unterschiedlichen Polymorphismen untersucht sowie die Fragen, ob es additive Effekte gibt, die einen Polymorphismus verstärkt in einer Gruppe auftreten lassen, und ob die Ergebnisse von ECT, LTT und Atopiestatus die Gruppen-Zugehörigkeit beeinflussen.

6.1 Ergebniszusammenfassung:

6.1.1 IL-1-Rezeptorantagonist (IL-1RN Intron 2 VNTR)

Vor allem der IL-1RN Intron 2 (VNTR) zeigt einen hochsignifikanten Unterschied in der Gruppen-Verteilung (signifikanter Unterschied innerhalb des IL-1-Rezeptorantagonist mit einem P-Wert (Fischer Exakt) von **0.0000475**). Die Wahrscheinlichkeit mit dem **Allel 498bp** in der Beschwerdegruppe zu sein, ist 3,3 mal höher als in der Kontrollgruppe (OR 3,3). Dieser Effekt verstärkt sich deutlich, wenn man nur die Personen mit dem „Zusatzfaktor „**Atopie** betrachtet.

Personen mit Atopie und dem **Allel 498bp** haben eine fast 40 mal höhere Wahrscheinlichkeit in der Beschwerdegruppe zu sein (OR 39).

Diese signifikante Korrelation zwischen IL-1-Rezeptorantagonist **Allel 498bp** und beschwerdebehafteter Endoprothetik wurde unseres Wissens erstmals gezeigt. Zeitgleiche **Atopie** verstärkt dies deutlich, wie auch ein positiver Metall-ECT und LTT (OR 5,7/ OR6,1). Somit kann man vermuten, dass Patienten mit nachweisbarem Allel 498bp und zusätzlicher Atopie oder Metallallergie ein höheres Risiko für eine Endoprothesenunverträglichkeit haben.

6.1.2 IL-1B-3954 (rs1143634), IL-1B-31 (rs1143627) und IL-1B-511 (rs16944)

IL-1B-3954 (rs1143634) und IL-1B-511 (rs16944) Polymorphismus zeigt keinen signifikanten Unterschied in der Gruppenverteilung. Das **Allel T des IL-1B-31** (rs1143627) Polymorphismus wird signifikant häufiger in der Kontrollgruppe gesehen (84.3% vs 48%, $p < 0.000001$) (OR 0,173). Ob dies einen protektiven Effekt bedeutet, muss noch mit größeren Studienpopulationen verifiziert werden.

6.1.3 Endoprothesenunverträglichkeit und Metallallergie sowie Atopie

In der hier vorliegenden Studie wurde kein signifikanter Unterschied bei Metall-ECT positiven und Metall-LTT positiven Personen im Zusammenhang mit der Gruppen-Zugehörigkeit gesehen. Allerdings waren deutlich mehr Personen mit einer Metallallergie (ECT positiv) in der Beschwerdegruppe zu finden als in der Kontrollgruppe (19,6% v. 9,7%). Auch die im LTT beurteilte Metall-Sensibilisierung war deutlich häufiger in der Beschwerdegruppe als in der Kontrollgruppe (27,4% v. 19,4%).

Die im Fragebogen erfasste kutane Metallunverträglichkeit lag bei 24,5% in der Beschwerdegruppe und 9,7% in der Kontrollgruppe. Dies passt zu den ECT- und LTT-Ergebnissen. Anamnestische Atopie haben mehr Personen in der Beschwerdegruppe angegeben als in der Kontrollgruppe (24,5% v. 16,1%; Unterschied nicht signifikant).

6.1.4 Endoprothesenunverträglichkeit und Beschwerden mit Zahnmaterial

In der Beschwerdegruppe haben 15,7% Beschwerden mit künstlichen Zahnmaterialien angegeben - in der Kontrollgruppe niemand. Dies unterstützt die Vermutung einer erhöhten Entzündungsbereitschaft in der Beschwerdegruppe. Allerdings müsste hier noch die Rolle der gefundenen Kontakt-Allergien bei einer Folgestudie hinterfragt werden.

6.2 Ausblick

Aus dieser Studie ergeben sich Hinweise darauf, dass Risikokonstellationen für eine beschwerdebehaftete Endoprothetik auch auf dem Boden einer genetischen Neigung z.B. zu erhöhter Entzündung bestehen könnten. Da im Vordergrund unserer Ergebnisse – neben der hinterfragten Kontaktallergie gegenüber Endoprothesenkomponenten - vor allem das Zusammentreffen von Atopie und **Allel 498 des IL-1RN Intron 2 VNTR** hoch signifikant mit beschwerdebehafteter Endoprothetik assoziiert ist, ermutigt dies zur Planung einer Verifikationsstudie. Idealerweise sollten in diese die hier erarbeiteten Untersuchungsschritte und das Meiden der erkannten Lücken/Schwächen einfließen.

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Basensequenz der verwendeten Polymorphismen mit den polymorphen Basen in eckigen Klammern.....	22
Tabelle 2: Basensequenz der verwendeten Primer mit spezifischer Annealing-Temperatur ...	23
Tabelle 3: Restriktionsverdauansatz und Inkubationszeit	25
Tabelle 4: Länge der geschnitten und ungeschnittenen PCR-Produkte	27
Tabelle 5: Alter und Geschlechterverteilung der Studienpopulation.....	30
Tabelle 6: Lokalisation der Implantate, Liegedauer mit (+/-) Standardabweichung, Verwendung von Knochenzement.	31
Tabelle 7: Art der Beschwerden in der Studienpopulation (Mehrfach Antwort möglich), die Angabe der Lockerung wurde nicht mit aufgeführt, da es sich um eine Diagnose handelt.	32
Tabelle 8: Angaben über künstliches Zahnmaterial und Zahnmaterial- Beschwerden in der Studienpopulation	32
Tabelle 9: Rauchverhalten der Studienpopulation	33
Tabelle 10: Atopie und kutane Metallunverträglichkeit in der Studienpopulation (Mehrfach-Antwort möglich).....	33
Tabelle 11: ECT-Testergebnisse (mehrfach positive Ergebnisse möglich); HEMA= Hydroxyethylmethacrylat. In dieser Tabelle werden nur die positiv getesteten Metalle aus der Standardreihe und die positiven Ergebnisse aus den Knochenzementkomponenten-Testungen dargestellt. *% bezogen auf das gesamte Kollektiv, ** % bezogen auf zementierte Endoprothesen.....	35
Tabelle 12: LTT-Testergebnisse	35
Tabelle 13: Zusammenschauende Bewertung von Klinik und Allergietest-Ergebnissen im Hinblick auf „Hinweis auf Implantatallergie“	36
Tabelle 14: Allelhäufigkeit des IL-1B-3954 Polymorphismus einschließlich der Subgruppenanalyse. Die Ergebnisse des Fisher's exact Test- und der Odd Ratio(+ 95% Konfidenzintervall) sind angegeben.	37
Tabelle 15: Allelhäufigkeit des IL-1B-31 Polymorphismus einschließlich der Subgruppenanalyse. Die Ergebnisse des Fisher's exact Test- und der Odd Ratio (+ 95% Konfidenzintervall) sind angegeben.	38
Tabelle 16: Allelhäufigkeit des IL-1B-511 Polymorphismus einschließlich der Subgruppenanalyse. Die Ergebnisse des Fisher's exact Test- und der Odd Ratio(+ 95% Konfidenzintervall) sind angegeben.	39
Tabelle 17: Allelhäufigkeit des IL-1RN Intron 2 VNTR Polymorphismus einschließlich der Subgruppenanalyse. Die Ergebnisse des Fisher's exact Test- und der Odd Ratio(+ 95% Konfidenzintervall) sind angegeben.	41
Tabelle 18: Firmen	69
Tabelle 19: Metalle aus der Standardreihe, Implantatmetall-Reihe und Knochenzementkomponenten-Reihe, sowie Testergebnisse.....	70

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Gel-Elektrophorese-Resultate a) Primer A IL-1beta-3954 , b) Primer IL-1beta- 31, c) Primer C IL1-beta-511, d) Primer D IL-1RN Intron 2 VNTR	26
Abbildung 2: Fragebogen zu Metallverträglichkeit aus der Implantatsprechstunde der LMU (Seite1).....	71
Abbildung 3: Fragebogen zu Metallverträglichkeit aus der Implantatsprechstunde der LMU (Seite2).....	72

9 Literaturverzeichnis

- 1 ["Quality assurance in the lymphocyte transformation test"--addendum to the LTT publication "Methods and quality assurance in environmental medicine" by the RKI Committee. "Methods and quality assurance in environmental medicine" report by the committee]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2008; **51**: 1070-1076.
- 2 2012 AOANJRRAR. Australian Orthopaedic Association National Joint Replacement Registry. Annual Report 2012. 2012.
- 3 (2015) O. Health at a Glance 2015: OECD Indicators, OECD Publishing, Paris. In. 2015.
- 4 Anakwe RE, Jenkins PJ, Moran M. Predicting dissatisfaction after total hip arthroplasty: a study of 850 patients. *J Arthroplasty* 2011; **26**: 209-213.
- 5 Anderson CA, Boucher G, Lees CW *et al*. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nat Genet* 2011; **43**: 246-252.
- 6 Balkwill FR BF. The Cytokine Network *Immunol Today* 1989 Sep; 10(19):299-304.
- 7 Barmer G, Gmünd S. *Barmer-GEK-Report Krankenhaus*: Asgard-Verlag. 2010.
- 8 Benson MK, Goodwin PG, Brostoff J. Metal sensitivity in patients with joint replacement arthroplasties. *Br Med J* 1975; **4**: 374-375.
- 9 Bourne RB, Chesworth B, Davis A *et al*. Comparing patient outcomes after THA and TKA: is there a difference? *Clin Orthop Relat Res* 2010; **468**: 542-546.
- 10 Cadosch D, Chan E, Gautschi OP *et al*. Metal is not inert: role of metal ions released by biocorrosion in aseptic loosening--current concepts. *J Biomed Mater Res A* 2009; **91**: 1252-1262.
- 11 Camargo JF, Correa PA, Castiblanco J *et al*. Interleukin-1beta polymorphisms in Colombian patients with autoimmune rheumatic diseases. *Genes Immun* 2004; **5**: 609-614.
- 12 Campos MI, Santos MC, Trevilatto PC *et al*. Evaluation of the relationship between interleukin-1 gene cluster polymorphisms and early implant failure in non-smoking patients. *Clin Oral Implants Res* 2005; **16**: 194-201.
- 13 Carlsson A MH. Implantation of orthopaedic devices in patients with metal allergy. *Acta Derm Venereol* 1989; **69**: 62-66.
- 14 Caso F, Costa L, Nucera V *et al*. From autoinflammation to autoimmunity: old and recent findings. *Clin Rheumatol* 2018; **37**: 2305-2321.
- 15 Catelas I, Wimmer MA, Utzschneider S. Polyethylene and metal wear particles: characteristics and biological effects. *Semin Immunopathol* 2011; **33**: 257-271.
- 16 Colhoun HM, McKeigue PM, Davey Smith G. Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet* 2003; **361**: 865-872.
- 17 Colotta F, Re F, Muzio M *et al*. Interleukin-1 type II receptor: a decoy target for IL-1 that is regulated by IL-4. *Science* 1993; **261**: 472-475.
- 18 Danis VA, Millington M, Hyland VJ *et al*. Cytokine production by normal human monocytes: inter-subject variation and relationship to an IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphism. *Clin Exp Immunol* 1995; **99**: 303-310.

- 19 Del Buono A, Denaro V, Maffulli N. Genetic susceptibility to aseptic loosening following total hip arthroplasty: a systematic review. *Br Med Bull* 2012; **101**: 39-55.
- 20 Deng JS QP, Li XX, Du YH Association between interleukin-1b C (3953/4)T polymorphism and chronic periodontitis: Evidence from a meta-analysis. *Human Immunology* 74 2013: 371–378.
- 21 Dereka X, Mardas N, Chin S *et al.* A systematic review on the association between genetic predisposition and dental implant biological complications. *Clin Oral Implants Res* 2012; **23**: 775-788.
- 22 Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 1996; **87**: 2095-2147.
- 23 Drynda A DS, Kekow J, Lohmann CH, Bertrand J. . Differential Effect of Cobalt and Chromium Ions as Well as CoCr Particles on the Expression of Osteogenic Markers and Osteoblast Function. *Int J Mol Sci.* 2018; **5;19(10)**. pii: **E3034**
- 24 Duchna HW NU, Merget R, Muhr G, Schultze-Werninghaus G. Prospective study of the significance of contact sensitization caused by metal implants. *Zentralbl Chir* 1998; **123**: 1271-1276.
- 25 Eis D, Wolf U. Qualitätssicherung beim Lymphozytentransformationstest–Addendum zum LTT-Papier der RKI-Kommission „Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin “. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitssch* 2008; **51**: 1070-1076.
- 26 El-Omar EM, Carrington M, Chow WH *et al.* Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature* 2000; **404**: 398-402.
- 27 Ertam I, Itirli G, Onay H *et al.* Interleukin-1 receptor antagonist and tumour necrosis factor-alpha gene polymorphisms in Turkish patients with allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 2009; **61**: 86-90.
- 28 Foussereau J, Laugier P. Allergic eczemas from metallic foreign bodies. *Trans St Johns Hosp Dermatol Soc* 1966; **52**: 220-225.
- 29 Frigerio E PP, Guzzi G, Altomare G. Metal sensitivity in patients with orthopaedic implants: a prospective study. *Contact Dermatitis.* 2011; **64**: 273-279.
- 30 Glas J, Torok HP, Schneider A *et al.* Allele 2 of the interleukin-1 receptor antagonist gene is associated with early gastric cancer. *J Clin Oncol* 2004; **22**: 4746-4752.
- 31 Granchi D CE, Tigani D, Trisolino G, Baldini N, Giunti A. Sensitivity to implant materials in patients with total knee arthroplasties. *Biomaterials* 2008; **29**: 1494-1500.
- 32 Greenfield EM. Do genetic susceptibility, Toll-like receptors, and pathogen-associated molecular patterns modulate the effects of wear? *Clin Orthop Relat Res* 2014; **472**: 3709-3717.
- 33 Gros Lambert M, Py BF. Spotlight on the NLRP3 inflammasome pathway. *J Inflamm Res* 2018; **11**: 359-374.
- 34 Gunaratne R, Pratt DN, Banda J *et al.* Patient Dissatisfaction Following Total Knee Arthroplasty: A Systematic Review of the Literature. *J Arthroplasty* 2017; **32**: 3854-3860.
- 35 Hacker UT, Bidlingmaier C, Gomolka M *et al.* Inflammatory bowel disease: no association between allele combinations of the interleukin (IL) I beta and IL-I receptor antagonist gene polymorphisms. *Eur J Clin Invest* 1998; **28**: 214-219.
- 36 Hallab N MK, Jacobs JJ. Metal sensitivity in patients with orthopaedic implants. *J Bone Joint Surg Am* 2001; **83**: 428-436.

- 37 Hallab NJ, Anderson S, Stafford T *et al.* Lymphocyte responses in patients with total hip arthroplasty. *J Orthop Res* 2005; **23**: 384-391.
- 38 Hallab NJ, Jacobs JJ. Biologic effects of implant debris. *Bull NYU Hosp Jt Dis* 2009; **67**: 182-188.
- 39 Hallab NJ, Jacobs JJ. Chemokines Associated with Pathologic Responses to Orthopedic Implant Debris. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2017; **8**: 5.
- 40 Hayashi F, Watanabe M, Nanba T *et al.* Association of the -31C/T functional polymorphism in the interleukin-1beta gene with the intractability of Graves' disease and the proportion of T helper type 17 cells. *Clin Exp Immunol* 2009; **158**: 281-286.
- 41 Hoffman HM, Wanderer AA. Inflammasome and IL-1beta-mediated disorders. *Curr Allergy Asthma Rep* 2010; **10**: 229-235.
- 42 Holt G, Murnaghan C, Reilly J *et al.* The biology of aseptic osteolysis. *Clin Orthop Relat Res* 2007; **460**: 240-252.
- 43 Ibrahim JN CE, Lecron JC, Mégarbané A, Medlej-Hashim M. Study of the association of IL-1 β and IL-1RA gene polymorphisms with occurrence and severity of Familial Mediterranean fever. *Eur J Med Genet* 2015; **58**: 668-673.
- 44 Ingham E, Fisher J. The role of macrophages in osteolysis of total joint replacement. *Biomaterials* 2005; **26**: 1271-1286.
- 45 Izakovicova Holla L, Borilova Linhartova P, Hrdlickova B *et al.* Haplotypes of the IL-1 gene cluster are associated with gastroesophageal reflux disease and Barrett's esophagus. *Hum Immunol* 2013; **74**: 1161-1169.
- 46 Jacobi-Gresser E, Huesker K, Schutt S. Genetic and immunological markers predict titanium implant failure: a retrospective study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2013; **42**: 537-543.
- 47 Jacobs CA, Christensen CP. Factors influencing patient satisfaction two to five years after primary total knee arthroplasty. *J Arthroplasty* 2014; **29**: 1189-1191.
- 48 Josefson A, Farm G, Meding B. Validity of self-reported nickel allergy. *Contact Dermatitis* 2010; **62**: 289-293.
- 49 Klinder A, Seyfarth A, Hansmann D *et al.* Inflammatory Response of Human Peripheral Blood Mononuclear Cells and Osteoblasts Incubated With Metallic and Ceramic Submicron Particles. *Front Immunol* 2018; **9**: 831.
- 50 Kornman KS, Crane A, Wang HY *et al.* The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1997; **24**: 72-77.
- 51 Kręcis B K-ŚM, Chomiczewska-Skóra D. Allergy to orthopedic metal implants - a prospective study. *Int J Occup Med Environ Health* 2012; **25**: 463-469.
- 52 Krenn V, Morawietz L, Perino G *et al.* Revised histopathological consensus classification of joint implant related pathology. *Pathol Res Pract* 2014; **210**: 779-786.
- 53 Krenn V, Otto M, Morawietz L *et al.* [Histopathologic diagnostics in endoprosthetics: periprosthetic neosynovialitis, hypersensitivity reaction, and arthrofibrosis]. *Orthopade* 2009; **38**: 520-530.
- 54 Krukemeyer MG, Möllenhoff G. *Endoprothetik: ein Leitfaden für den Praktiker*: Walter de Gruyter. 2013.
- 55 Kühn K-D. *PMMA Cements, Are we aware what we are using* Springer. 2014.
- 56 Lavu V, Venkatesan V, Venkata Kameswara Subrahmanya Lakkakula B *et al.* Polymorphic regions in the interleukin-1 gene and susceptibility to chronic periodontitis: a genetic association study. *Genet Test Mol Biomarkers* 2015; **19**: 175-181.

- 57 Lehtovirta L, Reito A, Parkkinen J *et al.* Association between periprosthetic tissue metal content, whole blood and synovial fluid metal ion levels and histopathological findings in patients with failed metal-on-metal hip replacement. *PLoS One* 2018; **13**: e0197614.
- 58 Li C, Wang C. Current evidences on IL1B polymorphisms and lung cancer susceptibility: a meta-analysis. *Tumour Biol* 2013; **34**: 3477-3482.
- 59 Liao J, Li C, Wang Y *et al.* Meta-analysis of the association between common interleukin-1 polymorphisms and dental implant failure. *Mol Biol Rep* 2014.
- 60 Liu N, Li X, Liu C *et al.* The association of interleukin-1alpha and interleukin-1beta polymorphisms with the risk of Graves' disease in a case-control study and meta-analysis. *Hum Immunol* 2010; **71**: 397-401.
- 61 Lopez-Mejias R, Genre F, Remuzgo-Martinez S *et al.* Interleukin 1 beta (IL1ss) rs16944 genetic variant as a genetic marker of severe renal manifestations and renal sequelae in Henoch-Schonlein purpura. *Clin Exp Rheumatol* 2016; **34**: S84-88.
- 62 Loppnow H. [Cytokines: classification, receptors, mechanisms of action]. *Internist (Berl)* 2001; **42**: 13-14, 17-27.
- 63 Loughlin J, Dowling B, Mustafa Z *et al.* Association of the interleukin-1 gene cluster on chromosome 2q13 with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2002; **46**: 1519-1527.
- 64 MacInnes SJ, Del Vescovo E, Kiss-Toth E *et al.* Genetic variation in inflammatory and bone turnover pathways and risk of osteolytic responses to prosthetic materials. *J Orthop Res* 2015; **33**: 193-198.
- 65 Martinon F, Mayor A, Tschopp J. The inflammasomes: guardians of the body. *Annu Rev Immunol* 2009; **27**: 229-265.
- 66 Meulenbelt I, Seymour AB, Nieuwland M *et al.* Association of the interleukin-1 gene cluster with radiographic signs of osteoarthritis of the hip. *Arthritis Rheum* 2004; **50**: 1179-1186.
- 67 Montes CC, Alvim-Pereira F, de Castilhos BB *et al.* Analysis of the association of IL1B (C+3954T) and IL1RN (intron 2) polymorphisms with dental implant loss in a Brazilian population. *Clin Oral Implants Res* 2009; **20**: 208-217.
- 68 Morawietz L, Gehrke T, Classen RA *et al.* [Proposal for the classification of the periprosthetic membrane from loosened hip and knee endoprostheses]. *Pathologe* 2004; **25**: 375-384.
- 69 Mullis K, Faloona F, Scharf S *et al.* Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1986; **51 Pt 1**: 263-273.
- 70 Nicklin MJ, Weith A, Duff GW. A physical map of the region encompassing the human interleukin-1 alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-1 receptor antagonist genes. *Genomics* 1994; **19**: 382-384.
- 71 Nursal AF, Tekcan A, Kaya SU *et al.* Interleukin-1Ra rs2234663 and Interleukin-4 rs79071878 Polymorphisms in Familial Mediterranean Fever. *Gene* 2016; **582**: 173-177.
- 72 O. Boy SH, E. Kociemba,. Hüft-Endoprothesenwechsel und -komponentenwechsel. *BQS-Fachgruppe Orthopädie und Unfallchirurgie* 2008.
- 73 O. Boy SH, E. Kociemba,. Knie-Endoprothesenwechsel und -komponentenwechsel. *BQS-Fachgruppe Orthopädie und Unfallchirurgie* 2008.

- 74 Padrón-Morales J, Sanz C, Dávila I *et al.* Polymorphisms of the IL12B, IL1B, and TNFA Genes and Susceptibility to Asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2013; **23**: 487-494.
- 75 Parkhill JM, Hennig BJ, Chapple IL *et al.* Association of interleukin-1 gene polymorphisms with early-onset periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000; **27**: 682-689.
- 76 Pattaro C, Heinrich J, Werner M, de Marco R, Wjst M. Association between interleukin-1 receptor antagonist gene and asthma-related traits in a German adult population. *Allergy* 2006; **61**: 239-244.
- 77 Pociot F, Molvig J, Wogensen L *et al.* A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest* 1992; **22**: 396-402.
- 78 Ramis IB, Vianna JS, Halicki PC *et al.* Relationship of interleukin-1B gene promoter region polymorphism with Helicobacter pylori infection and gastritis. *J Infect Dev Ctries* 2015; **9**: 1108-1116.
- 79 Rassow JH, K.; Netzker, R.; Deutzmann, R. *Duale Reihe Biochemie*. Stuttgart: Thieme Verlag. 2006.
- 80 Reich K, Westphal G, König IR *et al.* Cytokine gene polymorphisms in atopic dermatitis. *British Journal of Dermatology* 2003; **148**: 1237-1241.
- 81 Samelko L, Landgraeber S, McAllister K *et al.* Cobalt Alloy Implant Debris Induces Inflammation and Bone Loss Primarily through Danger Signaling, Not TLR4 Activation: Implications for DAMP-ening Implant Related Inflammation. *PLoS One* 2016; **11**: e0160141.
- 82 Sands D, Schemitsch EH. The Role of Metal-on-Metal Bearings in Total Hip Arthroplasty and Hip Resurfacing: Review Article. *HSS J* 2017; **13**: 2-6.
- 83 Santtila S, Savinainen K, Hurme M. Presence of the IL-1RA allele 2 (IL1RN*2) is associated with enhanced IL-1beta production in vitro. *Scand J Immunol* 1998; **47**: 195-198.
- 84 Schafer T, Bohler E, Ruhdorfer S *et al.* Epidemiology of contact allergy in adults. *Allergy* 2001; **56**: 1192-1196.
- 85 Schafer T, Heinrich J, Bohler E *et al.* [Allergies in adults]. *Gesundheitswesen* 2005; **67 Suppl 1**: S187-192.
- 86 Schnuch A, Aberer W, Agathos M *et al.* Durchführung des Epikutantests mit Kontaktallergenen. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* 2008; **6**: no-no.
- 87 Schnuch A, Aberer W, Agathos M *et al.* Leitlinien der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft (DDG) zur Durchführung des Epikutantests mit Kontaktallergenen. *Der Hautarzt* 2001; **52**: 864-866.
- 88 Spiewak R. Atopy and contact hypersensitivity: a reassessment of the relationship using objective measures. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; **95**: 61-65.
- 89 Stander S, Oppel E, Thomas P *et al.* Evaluation of lymphocyte transformation tests as compared with patch tests in nickel allergy diagnosis. *Contact Dermatitis* 2017; **76**: 228-234.
- 90 Sterner T, Schutze N, Saxler G *et al.* [Effects of clinically relevant alumina ceramic, zirconia ceramic and titanium particles of different sizes and concentrations on TNF-alpha release in a human macrophage cell line]. *Biomed Tech (Berl)* 2004; **49**: 340-344.

- 91 Summer B, Paul C, Mazoochian F *et al.* Nickel (Ni) allergic patients with complications to Ni containing joint replacement show preferential IL - 17 type reactivity to Ni. *Contact Dermatitis* 2010; **63**: 15-22.
- 92 Summer B, Stander S, Kapp F *et al.* [Role of the lymphocyte transformation test in the evaluation of metal sensitization]. *Hautarzt* 2016; **67**: 380-384.
- 93 Tahmasebi Z, Akbarian M, Mirkazemi S *et al.* Interleukin-1 gene cluster and IL-1 receptor polymorphisms in Iranian patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int* 2013.
- 94 Tarlow JK, Blakemore AI, Lennard A *et al.* Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. *Hum Genet* 1993; **91**: 403-404.
- 95 Thienpont E, Berger Y. No allergic reaction after TKA in a chrome-cobalt-nickel-sensitive patient: case report and review of the literature. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2013; **21**: 636-640.
- 96 Thomas P. Knieendoprothetik und Allergie. In *Revisionsendoprothetik des Kniegelenks (pp. 197-206)*. Springer Berlin Heidelberg. 2011.
- 97 Thomas P, Braathen LR, Dorig M *et al.* Increased metal allergy in patients with failed metal-on-metal hip arthroplasty and peri-implant T-lymphocytic inflammation. *Allergy* 2009; **64**: 1157-1165.
- 98 Thomas P, Schuh A, Ring J *et al.* [Orthopedic surgical implants and allergies. Joint statement by the Implant Allergy Working Group (AK 20) of the DGOOC (German Association of Orthopedics and Orthopedic Surgery), DKG (German Contact Dermatitis Research Group) and DGAKI (German Society for Allergology and Clinical Immunology)]. *Hautarzt* 2008; **59**: 220-229.
- 99 Thomas P, Stauner K, Schraml A *et al.* [Characteristics of 200 patients with suspected implant allergy compared to 100 symptom-free arthroplasty patients]. *Orthopade* 2013; **42**: 607-613.
- 100 Thomas P, Summer B, Krenn V *et al.* [Allergy diagnostics in suspected metal implant intolerance]. *Orthopade* 2013; **42**: 602-606.
- 101 Thomas P, Thomsen M. [Implant allergies]. *Hautarzt* 2010; **61**: 255-262; quiz 263-254.
- 102 Thomsen M, Rozak M, Thomas P. [Use of allergy implants in Germany: results of a survey]. *Orthopade* 2013; **42**: 597-601.
- 103 Thyssen JP MT. Metal Allergys A Review on Exposures, Penetration, Genetics, Prevalence, and Clinical Implications. *Chemical Research in Toxicology* 2010; **23**: 309-318.
- 104 Tsaousi A, Jones E, Case CP. The in vitro genotoxicity of orthopaedic ceramic (Al₂O₃) and metal (CoCr alloy) particles. *Mutat Res* 2010; **697**: 1-9.
- 105 Urban RM, Jacobs JJ, Tomlinson MJ *et al.* Dissemination of wear particles to the liver, spleen, and abdominal lymph nodes of patients with hip or knee replacement. *J Bone Joint Surg Am* 2000; **82**: 457-476.
- 106 Vincenzi B, Patti G, Galluzzo S *et al.* Interleukin 1beta-511T gene (IL1beta) polymorphism is correlated with gastric cancer in the Caucasian population: results from a meta-analysis. *Oncol Rep* 2008; **20**: 1213-1220.
- 107 Werner Buselmaier GT. Humangenetik. *Springer 4. Auflage* 2007: 18-21.
- 108 Witzleb WC, Hanisch U, Kolar N *et al.* Neo-capsule tissue reactions in metal-on-metal hip arthroplasty. *Acta Orthop* 2007; **78**: 211-220.

- 109 Wobbe CR, Struhl K. Yeast and human TATA-binding proteins have nearly identical DNA sequence requirements for transcription in vitro. *Mol Cell Biol* 1990; **10**: 3859-3867.
- 110 Yadav DK, Tripathi AK, Gupta D *et al.* Interleukin-1B (IL-1B-31 and IL-1B-511) and interleukin-1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphisms in primary immune thrombocytopenia. *Blood Res* 2017; **52**: 264-269.
- 111 Yang HT, Wang SL, Yan LJ *et al.* Association of interleukin gene polymorphisms with the risk of coronary artery disease. *Genet Mol Res* 2015; **14**: 12489-12496.
- 112 Yin W, Pan Y, Lin L. Association between IL-1alpha rs17561 and IL-1beta rs1143634 polymorphisms and periodontitis: a meta-analysis. 2016.
- 113 Zeng XT LD, Kwong JS, Leng WD, Xia LY, Mao M. Meta-Analysis of Association Between Interleukin-1 β C-511T Polymorphism and Chronic Periodontitis Susceptibility. *J Periodontol* 2015; **86**: 812-819.
- 114 Zipple J, Meyer-Ralfs M. [Themistocles Gluck (1853-1942), pioneer in endoprosthetics]. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 1975; **113**: 134-139.

10 Anhang

10.1 Tabellen

Firma	Beschwerdegruppe		Kontrollgruppe	
	Anzahl	Anteil	Anzahl	Anteil
Unbekannt	0	0,00%	32	35,60%
DePuy	30	29,40%	1	1,10%
Zimmer/Centerpulse	30	29,40%	13	14,40%
ESKA	2	2,00%	37	41,10%
Biomet Merck	1	1,00%	0	0,00%
Stryker	9	8,80%	0	0,00%
AsculapBBraun	2	2,00%	5	5,60%
Smith&Nephew	6	5,90%	0	0,00%
sonstige	6	5,90%	0	0,00%
Howmedia	1	1,00%	0	0,00%
Biomet Oxford	8	7,80%	0	0,00%
Link	2	2,00%	1	1,10%
Medacta	0	0,00%	1	1,00%
Endoplant	3	2,90%	0	0,00%
Implant-cast	2	2,00%	0	0,00%
Gesamt	102	100,00%	90	100,00%

Tabelle 18: Firmen

ECT-Test	Beschwerdegruppe		Kontrollgruppe	
Nickel				
Nickel negativ	81	79,40%	84	90,30%
Nickel positiv	20	19,60%	9	9,70%
Nickel fraglich	1	1,00%	0	0,00%
Kobalt				
Kobalt negativ	93	91,20%	90	96,80%
Kobalt positiv	7	6,90%	3	3,20%
Kobalt fraglich	2	2,00%	0	0,00%
Kaliumdichromat				
Kaliumdichromat negativ	99	98,00%	92	98,90%
Kaliumdichromat positiv	2	2,00%	1	1,10%
Mangan				
Mangan negativ	101	100,00%	5	100,00%
Mangan positiv	0	0,00%	0	0,00%
Molybdän				
Molybdän negativ	100	99,00%	5	100%
Molybdän positiv	1	1,00%	0	0%
Titan				
Titan negativ	101	100,00%	5	100%
Titan positiv	0	0,00%	0	0%
Vanadium				
Vanadium negativ	101	100,00%	5	100%
Vanadium positiv	0	0,00%	0	0%
Gentamicin				
Gentamicin negativ	75	8,30%	32	100%
Gentamicin positiv	9	10,00%	0	0%
Gentamicin fraglich	6	6,70%	0	0%
Benzoylperoxid				
Benzoylperoxid negtiv	84	91,30%	30	93,8%
Benzoylperoxid positiv	8	8,70%	2	63,0%
Hydrochinon				
Hydrochinon negativ	92	100,00%	32	100,0%
Hydrochinon positiv	0	0,00%	0	0,0%
HEMA				
HEMA negativ	90	97,80%	32	100,0%
HEMA positiv	2	2,20%	0	0,0%
Kupfer2Sulfat				
Kupfer2Sulfat negativ	91	100,00%	32	100,0%
Kupfer2Sulfat positiv	0	0,00%	0	0,0%
Methylmethacrylat				
Methylmethacrylat negativ	92	100,00%	32	100,0%
Methylmethacrylat positiv	0	0,00%	0	0,0%
NNDimethyl-p-Toludin				
NNDimethyl-p-Toludin negativ	90	97,80%	32	100,0%
NNDimethyl-p-Toludin positiv	2	2,20%	0	0,0%

Tabelle 19: Metalle aus der Standardreihe, Implantatmetall-Reihe und Knochenzementkomponenten-Reihe, sowie Testergebnisse.

10.2 Fragebogen Metallverträglichkeit

LMU	KLINIKUM <small>DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN</small>	KLINIK UND POLIKLINIK FÜR DERMATOLOGIE UND ALLERGOLOGIE DIREKTOR: PROF. DR. MED. DR. H.C. THOMAS RUZICKA	
Kleines Patientenetikett		(010205000507)	
	010205000507	Spezielle Anamnese-Allergologie	

FRAGEBOGEN ZU METALLVERTRÄGLICHKEIT

☐ ≤ 10' ☐ > 10' ☐ > 20'

Patient weiblich männlich Datum _____

Bitte zutreffende Antworten ankreuzen bzw. ergänzen.

I. Eigene Vorgeschichte

1. Allgemeines

➤ Rauch(t)en Sie Zigaretten? Nein Ja (jetzt) Ja (früher)

➤ Nehmen Sie Medikamente ein? Nein Ja, und zwar:

1. _____ Seit wann? _____

2. _____ Seit wann? _____

3. _____ Seit wann? _____

2. Vorerkrankungen

➤ Haben Sie anderweitige Erkrankungen? Nein Ja, und zwar:

Hoher Blutdruck Sonstige _____

Sonstige Herz-Kreislaufkrankungen _____

Diabetes _____

Rheuma _____

Osteoporose _____

3. Metallimplantate

➤ Hatten Sie früher schon einmal Beschwerden in Zusammenhang mit einem Metallimplantat?

Nein Ja, und zwar: _____

➤ Wann wurde das Metallimplantat entfernt? Datum: _____

➤ Haben Sie derzeit ein Metallimplantat? Nein Ja, und zwar:

Hüftprothese Knieprothese Osteosynthesematerial Sonstiges _____

Datum: _____

Körperseite: rechts links

Material: Stahl Kobalt/Chrom Titan Sonstiges _____

Hersteller / Typ: _____

Zementiert? Nein Ja, und zwar mit _____ (Name des Zements)

© Allergologie - Prof. Dr. med. P. Thomas - Frauenlobstraße 9-11 - 80337 München - Telefon +49 (0)89 4400 - 561 75 

Abbildung 2: Fragebogen zu Metallverträglichkeit aus der Implantatsprechstunde der LMU (Seite1)

➤ Haben Sie heute Beschwerden im Zusammenhang mit dem Metallimplantat?

- Nein Ja, und zwar:
- Schmerzen Schwellung Rötung Ekzem
- Erguss Lockerung Bewegungseinschränkung
- Sonstige _____

4. Zahnmaterialien

➤ Haben Sie künstliche Zahnmaterialien? Nein Ja, welche?

- Art: Prothese Zahnimplantat Krone/Brücke Sonstiges
- Material: Kunststoff Keramik Metall Titan Sonstiges
- Beschwerden: keine
- Schmerzen Brennen Rötung offene Stellen im Mund
- Zahnfleischentzündung Zahnfleischverdickung
- Sonstiges _____

5. Allergische Erkrankungen

➤ Sind folgende Erkrankungen bei Ihnen aufgetreten?

- Heuschnupfen Nein Ja
- Asthma Nein Ja
- Neurodermitis Nein Ja

Hautausschlag durch

- Metallkontakt an der Haut Nein Ja
- in Form von: Juckreiz Ekzeme Rötung Sonstiges _____
- durch: Schmuck Uhrarmband Jeansknopf Sonstiges _____
- Andere Substanzen Nein Ja,
- in Form von: Juckreiz Ekzeme/Ausschlag Rötung Sonstiges _____
- durch: Medikamente Nahrungsmittel Sonstiges _____

➤ Welche allergischen Erkrankungen wurden bei Ihnen von ärztlicher Seite festgestellt?

- Heuschnupfen Neurodermitis allergisches Asthma Medikamentenallergie Kontaktallergie
- Metallallergie auf: Nickel Kobalt Chrom Sonstiges _____

➤ Haben Sie einen Allergietest? Nein Ja

II. Familienvorgeschichte (Eltern, Geschwister, Kinder)

Sind folgende Erkrankungen in Ihrer Familie aufgetreten?

- Heuschnupfen Nein weiß nicht Ja, bei Mutter Vater Geschwister Kinder
- Neurodermitis Nein weiß nicht Ja, bei Mutter Vater Geschwister Kinder
- Asthma Nein weiß nicht Ja, bei Mutter Vater Geschwister Kinder

Abbildung 3: Fragebogen zu Metallverträglichkeit aus der Implantatsprechstunde der LMU (Seite2)

11 Danksagung

Ich bedanke mich recht herzlich bei Herrn Prof. Dr. Dr. T. Ruzicka, ehemaliger ärztlicher Direktor der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie der Ludwig-Maximilians Universität München und bei Herrn Prof. Dr. Lars French, ärztlicher Direktor der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie, für die Möglichkeit meine Promotion in der Klinik für Dermatologie der LMU München machen zu können.

Mein besonderer Dank geht an meinen Doktorvater Herrn Prof. Dr. P. Thomas für die Bereitstellung des interessanten Themas, die außergewöhnlich freundliche, gute und menschliche Betreuung, die große Unterstützung und die endlose Motivation.

Besonderer Dank gilt auch Herrn Dr. B. Summer für die sehr engagierte Betreuung und tatkräftige Hilfe bei dieser Arbeit.

Auch bei Herrn Ralf Pohl möchte ich mich bedanken.

Weiterer Dank geht an meine Eltern und an meinen Mann, ohne deren Geduld und Unterstützung es nicht zu dieser Arbeit gekommen wäre.



LUDWIG-
MAXIMILIANS-
UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

Promotionsbüro
Medizinische Fakultät



Eidesstattliche Versicherung

Lill, Diana Maria

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

**Personenbezogene Risikofaktoren für eine gesteigerte Entzündungsantwort bei Endoprothetik
:Untersuchung von Zytokinpolymorphismen**

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.

München, 23.11.2020

Ort, Datum

Diana Maria Lill

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand