

Alexander Kaksa

Dr. med.

Implantat-assoziierte, posttraumatische Osteitis: Erhöhte Sauerstoffradikalproduktion lokaler polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten.

Promotionsfach: Chirurgie (BG Unfallklinik Ludwigshafen)

Doktorvater: apl. Prof. Dr. med. C. Wagner

Die Implantat-assoziierte posttraumatische Osteitis ist eine schwerwiegende und gefürchtete Komplikation in der orthopädisch-traumatologischen Chirurgie, deren Pathogenese multifaktoriell, aber bis heute nicht eindeutig geklärt ist. Die Bildung bakterieller Biofilme auf Implantaten ist ursächlich an der Erregerpersistenz und dem chronischen Entzündungsprozess beteiligt.

Bakterien in Biofilmen weisen einen Überlebensvorteil gegenüber planktonisch wachsenden Bakterien auf, da sie sowohl eine relative Resistenz gegenüber antimikrobiellen Substanzen als auch gegenüber der körpereigenen Abwehr aufweisen. In vorausgegangenen Arbeiten konnten bei Patienten mit implantat-assoziiertes Osteitis immunkompetente Abwehrzellen, hauptsächlich polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PMN), am Infektionsort nachgewiesen werden.

Das gleichzeitige Vorhandensein von immunkompetenten und hoch aktivierten Abwehrzellen im Infektionsgebiet weist auf ein Versagen der Immunantwort hin. An welcher Stelle sie versagt, ist unklar.

In der vorliegenden Arbeit wurden bei Patienten mit Implantat-assoziiertes Osteitis, durch Spülung des Operationssitus mit steriler Kochsalzlösung, PMN aus dem Infektionsgebiet gewonnen und diese phänotypisch und funktionell charakterisiert. Anhand der Zunahme der Expression von CD14 sowie einem Verlust von CD62L konnte die Aktivierung der PMN nachgewiesen werden. Weiterhin wurde die Produktion von Sauerstoffradikalen (O_2^-) als eine mögliche Ursache für das Versagen der körpereigenen Abwehr untersucht. Gemessen wurde die Produktion und Freisetzung von Sauerstoffradikalen (O_2^-) an der Reduktion von Cytochrom C.

Im Gegensatz zum peripheren Blut der Patienten produzierten die PMN im entzündlichen Infiltrat vermehrt Sauerstoffradikale auf einen schwachen Stimulus wie das bakterielle Tripeptid formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanin (f-MLP).

Somit konnte gezeigt werden, dass die PMN im Infektionsgebiet im Sinne eines „Primings“ voraktiviert sind. *In vitro* Versuche, bei denen ein „Priming“ der PMN gesunder Spender mit LPS, LTA oder TNF α erfolgte, zeigten analoge Ergebnisse.

Somit konnte eine Verminderung der Sauerstoffradikalbildung resp. eine Störung des „respiratory burst“ lokaler polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten Ursache für das Versagen der körpereigenen Abwehr bei der Implantat-assoziierten Osteitis ausgeschlossen werden.

Unklar ist der molekulare Mechanismus des „Primings“. *In vitro* Versuche zeigten, nach Stimulation mit LPS, LTA oder TNF α , eine Translokation des Proteins p47phox, einem Bestandteil der NADPH-Oxidase, in die Zellmembran der Granulozyten. Um zu prüfen, ob bei den PMN aus dem Infektionsgebiet im Rahmen des „Primings“ ebenfalls eine Translokation von p47 phox in die Zellmembran stattgefunden hat, wurde die Expression von p47 phox bei den PMN aus dem entzündlichen Infiltrat der Patienten untersucht. Eine vermehrte Expression von p47 phox in der Zellmembran der PMN konnte jedoch nicht eindeutig nachgewiesen werden, da es bei den Patienten starke interindividuelle Schwankungen gab.

Somit bleibt die Frage nach dem molekularen Mechanismus des „Primings“ bei den PMN aus dem Infektionsgebiet weiter offen und muss in folgenden Studien weiter untersucht werden.

Eine Hypothese für das Versagen der Immunabwehr ist die sogenannte „frustrane Phagozytose“, d.h. der Versuch der hochaktivierten PMN im Entzündungsgebiet, die Bakterien im Biofilm zu phagozytieren, was ihnen aber aufgrund der Partikelgröße nicht gelingt. Die Folge ist eine dauerhafte Aktivierung der PMN mit unkontrollierter Freisetzung der zytotoxischen und proteolytischen Entitäten, die zu Zerstörungen des umliegenden körpereigenen Gewebes und zu Osteolysen des Knochens im Sinne eines „Kollateralschadens“ führt. Neuere Untersuchungen mit experimentell generierten bakteriellen Biofilmen zeigen jedoch, dass eine Phagozytose des Biofilms möglich ist. Interessant ist hierbei unter anderem die Auswirkung des „Alters“ bzw. der Reife des Biofilms.

Eine Voraussetzung für die Entwicklung neuer Therapie- und Präventionsstrategien bei der Behandlung der Implantat-assoziierten posttraumatischen Osteitis sowie anderer Implantat- bzw. biofilm-assoziierten Infektionen ist die Kenntnis ihres Pathomechanismus bzw. der Interaktion des Immunsystems mit bakteriellen Biofilmen.

Die vorliegende Arbeit soll daher einen Beitrag zur Klärung des Pathomechanismus der Implantat-assoziierten posttraumatischen Osteitis leisten und Anstoß geben für weitere Folgeprojekte über immunologische Mechanismen der Implantatinfektionen.

