
Aus der Klinik für Chirurgie Sektion für Plastische Chirurgie, Handchirurgie, Intensiveinheit für Schwerbrandverletzte der Universität zu Lübeck

Sektionsleiter: Prof. Dr. med. P. Mailänder

Beurteilung der Biokompatibilität unterschiedlicher Silikonprothesen unter spezieller Betrachtung der antiinflammatorischen Wirkung verschiedener Beschichtungen im Tiermodell

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
-Aus der Sektion Medizin-

vorgelegt von
Benedikt Becker
aus
Hamburg



Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Beurteilung der Biokompatibilität unterschiedlicher Silikonprothesen unter spezieller

Betrachtung der antiinflammatorischen Wirkung verschiedener

Beschichtungen im Tiermodell

ohne fremde Hilfe selbstständig verfasst wurde und nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt wurden. Wörtlich oder sinngemäß aus anderen Werken entnommene Stellen sind unter Angabe der Quelle kenntlich gemacht.

Alle Quellen, die dem World Wide Web entnommen oder in einer sonstigen digitalen Form verwendet wurden, sind der Arbeit beigefügt.

Lübeck, den 06. August 201	4

Benedikt Becker

Inhaltsverzeichnis

EI	DESSTA	ATTLICHE ERKLÄRUNG	I
IN	IHALTS'	VERZEICHNIS	II
Α	BKÜRZI	UNGSVERZEICHNIS	IV
1	EINI	LEITUNG	1
	1.1	GESCHICHTE DER SILIKONGELIMPLANTATE	1
	1.2	KOMPLIKATIONEN	
	1.3	KAPSELFIBROSE	
	1.3.1	L Ätiologie der Kapselfibrose	5
	1.3.2		
	1.3.3	3 Untersuchungen und Ansätze zur Reduktion der Kapselfibrose	9
	1.4	IMPLANTATTECHNOLOGIE	15
	1.5	OBERFLÄCHEN	17
	1.5.1	I Texturierte Implantate	18
	1.5.2	Polyurethan-Implantate	19
	1.5.3	3 Titanisierte Silikongelimplantate	20
	1.6	AUSBLICK AUF NEUE BESCHICHTUNGEN	20
2	FRA	GESTELLUNG	23
3	MA	TERIAL UND METHODE	24
	3.1	TIERKOLLEKTIV	24
	3.2	VERWENDETE IMPLANTATE	25
	3.3	Operationsvorbereitung	25
	3.4	OPERATION	25
	3.5	EXPLANTATION UND PROBENVERARBEITUNG	27
	3.5.1	Brain Heart Infusion Agar	27
	3.5.2	2 Untersuchung des Implantats auf mikrobielle Kontamination	28
	3.6	HISTOLOGISCHE - UND IMMUNHISTOCHEMISCHE NACHWEISVERFAHREN	29
	3.6.1	Anfertigung histologischer Schnittpräparate	29
	3.6.2	Naphthol-AS-D-Chloracetatesterase-Färbung	31
	3.7	IMMUNHISTOCHEMIE	31
	3.7.1	L Antigen-Antikörper-Reaktion	31

	3.7.2	Pärbung von CD3 positiven Zellen	32
	3.8	Material und Ansätze	34
	3.9	STATISTISCHE AUSWERTUNG	37
4	ERG	EBNISSE	39
	4.1	VERSUCHSAUFBAU	39
	4.2	HISTOLOGISCHE- UND IMMUNHISTOCHEMISCHE ERGEBNISSE	39
	4.2.1	Kapselarchitektur	39
	4.2.2	2 Kapseldicke	41
	4.2.3	Myofibrillenanteil an der Gesamtkapsel	42
	4.2.4	Synoviale Metaplasiezone	45
	4.2.5	5 Blutgefäße	47
	4.2.6	5 Entzündungszellen	49
	4.2.7	7 Mikrobiologie	53
5	DISE	(USSION	54
6	ZUS	AMMENFASSUNG	72
7	LITE	RATURVERZEICHNIS	74
8	ABB	ILDUNGSVERZEICHNIS	85
9	ТАВ	ELLENVERZEICHNIS	87
1() ANF	IANG	88
11	L DAN	IKSAGUNG	93
12) LFRI	FNSLAUF	94

Abkürzungsverzeichnis

PU: Polyurethan

FDA: Food and Drug Administration

PAS: Periodic acid-Schiff reaction

TGF: Transforming growth factor

SLM: Synovia-Like-Metaplasia

Si-O: Siliziumoxid

PDMS: Polydimethylsiloxan

PACVD: Plasma activated chemical vapor deposition

Ti-Mesh: Titanisiertes Polypropylennetz

GTH: Gemeinsame Tierhaltung

CO₂: Kohlenstoffdioxid

NaCl: Natriumchlorid

PFA: Paraformaldehyd

BHI: Brain Heart Infusion Agar

DAB: Di-amino-Benzidin

TBS: Tris-buffered saline

HRP: Horseradish peroxidase

CFU: Colony forming units

ADM: Azelluläre Dermale Matrix

1 Einleitung

1.1 Geschichte der Silikongelimplantate

Der erste brustrekonstruktive Eingriff wurde 1895 von dem österreichischen Arzt Vincenz Czerny durchgeführt. Als Material benutzte er ein körpereigenes Lipom aus dem Rücken der Patientin, das er zu einer neuen Brust formte [1]. Wegen mangelnder Zufriedenheit am optischen Ergebnis wurden in den folgenden 50 Jahren unterschiedliche Materialien und Methoden zur Rekonstruktion der Brust erprobt. Hierzu gehörten u.a. die Materialien Gummi, Glas und flüssiges Silikongel [2, 3]. Aufgrund von Entzündungen, Schmerzen und Verhärtungen der Brüste, sowie einer unnatürlichen optischen Erscheinungsform, musste das Fremdmaterial häufig in einer zweiten Operation wieder entfernt werden [4].

Das erste Silikongelimplantat zur Brustrekonstruktion wurde 1963 von den Chirurgen Cronin und Gerow eingesetzt [5]. Seither wurden Silikongelimplantate sukzessive über vier Generationen weiterentwickelt (siehe Tabelle 1), die zu einem natürlicheren Aussehen der rekonstruierten Brust führen sollten [6]. Die Implantate der ersten Generation besaßen eine dicke Silikonhülle und waren mit zähflüssigem Silikongel gefüllt. Im Jahre 1972 wurden die Implantate der zweiten Generation vorgestellt. Im Vergleich zur ersten Generation hatten diese eine wesentlich dünnere Hülle (0,13 mm an Stelle von 0,25 mm) und eine weniger zähflüssige Silikongelfüllung. Dies führte zu einem natürlicheren Aussehen der Brust. Allerdings stiegen mit Verwendung der Implantate der zweiten Generation die Fälle von Implantatrupturen und es kam zu einem Auslaufen von Silikongel [7], dem sogenannten "silicone bleeding" [8, 9]. Dies führte zu einer Volumenminderung und zu einer Formveränderung der Implantate. Zusätzlich hatten die auslaufenden Silikonbestandteile einen gewebereizenden Effekt, was letztendlich zu einer Fibrosierung mit nachfolgender Abkapselung des Silikons führte [8, 10]. Um dem "silicone bleeding" entgegenzuwirken, wurde Mitte der 1980er Jahre die dritte Generation von Implantaten vorgestellt. Diese besaßen eine Silizium-verstärkte Kapselummantelung und ein kohäsives Silikongel als Füllungssubstanz und waren somit reißfester. In der darauffolgenden vierten Generation, die 1992 auf den Markt kam, wurde die Formstabilität der Implantate durch Verwendung von "Memory-Gel" optimiert, sodass

diese nun auch für eine optische Zufriedenheit sorgten [10, 11]. Dieses Silikongel hat die Eigenschaft, trotz mechanischer Einflüsse seine ursprüngliche Form beizubehalten [12].

Die Charakteristika der verschiedenen Generationen werden in Tabelle 1 noch einmal zusammengefasst.

Generation	Jahr	Charakteristika	
1. Generation	1963	 Dicke Hülle (0,25 mm Durchschnitt) Visköse Silikongelfüllung Glatte Außenhaut 	
2. Generation	1970er	Dünne Hülle (0,13 mm Durchschnitt)Weniger zähflüssiges Gel	
3. Generation	1985	Dickere, Silizium-verstärkte KapselummantelungKohäsives Silikongel	
4. Generation	1992 – Gegenwart	 Füllung mit sog. "Memory-Gel" Formstabilere Implantate Anatomisch oder rund geformt Glatte und texturierte Oberflächen 	

Tabelle 1: Merkmale von Brustimplantaten der verschiedenen Generationen [12]

Durch die kontinuierliche Anpassung und Änderung der Konsistenz von Füllmaterial und Hülle der Silikongelimplantate sind verschiedene Ausführungen von Implantaten auf dem Markt etabliert. Aktuell werden regelmäßig Silikongelimplantate und Kochsalz gefüllte Implantate mit jeweils verschiedenen Oberflächen verwendet [7].

1.2 Komplikationen

Trotz der stetigen Weiterentwicklung der Silikongelimplantate über vier Generationen bleibt Silikon für den Körper ein Fremdmaterial. Die Implantation dieses Fremdmaterials wird daher sowohl mit systemischen als auch lokalen Komplikationen assoziiert, die im Folgenden genauer erläutert werden sollen.

(a) Systemische Komplikationen

In den 1980er Jahren postulierten Sergott et al. in ihrer Arbeit einen Zusammenhang zwischen Silikongelimplantaten und dem Auftreten von systemischen Erkrankungen [13]. Neben Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis wurde auch ein Zusammenhang zu der Entstehung von Tumoren beschrieben [14]. Neben multiplen Myelomen und kutanen T-Zell-Lymphomen standen auch Mammakarzinome im Verdacht bei Verwendung von Silikonimplantaten gehäuft vorzukommen. [15]. Die "Food and Drug Administration" (FDA) reagierte auf diese Ereignisse am 16. April 1992 mit einem Verbot der Verwendung von Silikongelimplantaten. Von dem Verbot ausgenommen waren Kochsalz gefüllte Implantate sowie die Implantation von Silikonimplantaten bei Frauen, die sich an klinisch kontrollierten Studien der FDA beteiligten und sich somit über die möglichen Risiken bewusst waren [16].

Bei der Überprüfung dieser Implantate mit Hilfe von Studien zeigten sich jedoch keinerlei Hinweise auf eine mögliche Korrelation zwischen Autoimmunerkrankungen und Brustrekonstruktionen [17, 18]. Dies verdeutlichen auch die Stellungnahmen des American College of Rheumatology (1995) und der American Academy of Neurology (1997) [17]. Auch die Zusammenhänge mit Krebserkrankungen konnten wiederlegt werden [19]. Aufgrund weiterer Studien [20-24] veranlasste die FDA im September 2005 eine erneute offizielle Zulassung der Silikongelimplantate [18]. Aus diesem Verbot und der kontroversen Diskussion über die Verwendung von Silikongelimplantaten resultierte besonders in den USA eine zunehmende Verwendung von mit Kochsalz gefüllten Implantaten [25, 26]. Derzeit werden in Deutschland jährlich ca. 15.000 – 20.000 Brustrekonstruktionen mit Implantaten vorgenommen. Silikongelimplantate haben dabei mit 90 % einen deutlich höheren Marktanteil gegenüber den mit Kochsalz gefüllten Implantaten [27, 28]. In anderen Ländern haben Kochsalz gefüllte Implantate dagegen einen höheren Stellenwert: In den USA werden in etwa 50 % der Fälle Kochsalz gefüllte Implantate verwendet. Kochsalz gefüllte Implantate bieten den Vorteil, dass sie kein gesundheitliches Risiko beim Auslaufen des Implantates bürgen sowie ein leichteres Einbringen durch einen kleineren Schnitt ermöglicht wird. Allerdings führt der Gebrauch

dieser Implantate zu einer weniger natürlichen Haptik sowie zu "Gluckergeräuschen" bei stärkerer Bewegung [26].

(b) Lokale Komplikationen

Blount et al. fassen in ihrem Review Daten aus mehreren Studien mit einem Gesamtkollektiv von 856 Patienten zusammen, in welchem sie das Auftreten lokaler Komplikationen nach primärer Brustrekonstruktion benennen. Neben der Verschiebung des Implantats (7,4 %) traten Implantatrupturen (3,7 %), Kapselfibrosen Typ 3 und 4 nach Baker (2,8 %), Narbendehiszenzen (2,2 %), Hämatome (0,9 %) sowie Infektionen (0,7 %) als die häufigsten Komplikationen auf [29]. Des Weiteren zeigte sich, dass Patienten, bei denen nach der Implantation Hämatome auftraten, in Jahren nach der Operation zudem ein höheres Risiko für die Ausbildung einer Kapselfibrose bestand [30]. Darüber hinaus traten Serombildung, chronischer Schmerz, Auslaufen des Implantats, Kalzifikationen, Nekrosen des Brustwarzenvorhofs und Wunddehiszenzen auf [31-33]. Zudem kam es laut einer Studie von Hedén et al. bei stillenden Frauen zu einer Laktation nach stattgehabter Brustaugmentation und Problemen beim Stillen [34].

Zusammenfassend stehen im Vordergrund der meisten Studien als lokale Komplikationen in den ersten 30 Tagen nach Implantation Hämatome, Infektionen und Serome. Im weiteren Verlauf stehen Asymmetrien der Brüste, Rotationen der Implantate und als Hauptkomplikation die Kapselfibrose im Vordergrund. Letzteres häufig mit einer subklinischen Infektion assoziiert [29, 35, 36].

1.3 Kapselfibrose

Gelangen Fremdstoffe oder Krankheitserreger in den menschlichen Organismus, setzt dies den Ablauf einer Immunreaktion in Gang. Die Immunreaktion beginnt bei den Abwehrzellen des unspezifischen Immunsystems, den Phagozyten. Diese Zellen erkennen die Fremdkörper, nehmen sie auf und transportieren sie in das Lymphsystem. Fremdkörper, die für eine Phagozytose zu groß sind, kapseln sich im Rahmen der Abwehrreaktion ab [6]. Brustimplantate stellen im Allgemeinen einen solchen Fremdkörper dar und lösen deshalb eine Abwehrreaktion mit Ausbildung einer

bindegewebigen Kapsel aus. Diese kann im Verlauf kontrahieren. Dieser Vorgang wird dann als "Kapselfibrose" bezeichnet [34, 37, 38] und ist aktuell mit einer Inzidenz von 0,6 % - 7,4 % in der Literatur beschrieben [29, 37, 39-42]. Symptome der Kapselfibrose sind Schmerzen, Spannungen und Deformitäten der Brust. Daneben kann es zu Brustverhärtung, Fremdkörpergefühl und Sensibilitätsstörungen der Mamille kommen [6, 43]. Unter Umständen kann eine revidierende Operation als einzige Behandlungsoption verbleiben [32]. Mögliche Vorgehensweisen beinhalten dabei entweder eine Explantation bzw. Neueinlage des Implantats oder eine Kapsulektomie [32]. In den folgenden Abschnitten sollen die Ätiologie, sowie die bisherigen Ansätze zur Reduktion von Kapselfibrose genauer erläutert werden.

1.3.1 Ätiologie der Kapselfibrose

Kapselbildung findet im Rahmen einer Immunreaktion auf große Fremdkörper statt [44]. Dabei kommt es zur Einwanderung von Entzündungszellen, bestehend aus Granulozyten, Lymphozyten sowie Makrophagen und anschließend zur Einwanderung von Fibroblasten [43].

Faktoren, welche die Ausbildung einer Kapselfibrose beeinflussen sind die Oberflächenbeschaffenheit, das Füllungsmaterial, die Lage sowie die Größe der Implantate [39, 45]. Zudem sind eine periprothetische bakterielle Besiedlung mit anschließender subklinischer Infektion von entscheidender Bedeutung [30, 32, 39, 45-47].

Das Füllmaterial eines Implantats kann entweder aus kohäsivem Silikongel oder einer Kochsalzfüllung Nach Verbot Verwendung bestehen [26]. dem der Silikongelimplantaten der FDA im Jahre 1992 profitierten die Hersteller von mit Kochsalz gefüllten Silikonimplantaten. Einhergehend wurden Studien publiziert, die eine hohe Sicherheit im Gebrauch von mit Kochsalz gefüllten Implantaten aufwiesen [26, 48-51]. Häufig wurde auf das fehlende Problem des silicone bleedings mit anschließender Fibrosierung eingegangen, weshalb ursprünglich auch nach einer Alternative zum Silikongel gesucht wurde. Die Mehrzahl vergleichender Studien konnten dieses Ergebnis allerdings nicht bestätigen und sahen bezüglich der Komplikationsstatistik deutliche Vorteile auf Seiten der Silikongelimplantate [39, 52]. Bezüglich der Zufriedenheit des optischen Ergebnisses von über 3000 befragten Frauen, waren Trägerinnen von Silikongelimplantaten deutlich zufriedener gegenüber den Frauen, die Kochsalz gefüllte Implantate erhalten hatten [53, 54].

Ein Implantat kann entweder submuskulär oder subglandulär eingesetzt werden. In den meisten relevanten Studien, die über ein großes Patientenkollektiv berichteten, spielt die Lage eine untergeordnete Rolle [39]. Aufgrund eigener Expertise und Erfahrung seitens der Operateure wird meist eine submuskuläre Lage bevorzugt. Besonders bei Patienten mit einem schlanken Habitus sowie einem geringen Haut- und Weichteilmantel wird diese Lage der Implantation bevorzugt angewandt [49, 55-58].

Unabhängig von der Beschaffenheit und der Lage der Implantate wird bei Patienten mit vorbestrahlten Brüsten ein signifikant häufigeres Vorkommen von Kapselfibrose beobachtet [32, 59].

1.3.2 Biofilmbildung und bakterielle Kontamination

Die bakterielle Infektion gilt derzeit als die Hauptursache für die Entwicklung etwaiger Komplikationen nach Brustrekonstruktion. Es konnte gezeigt werden, dass der Grad der Kapselfibrose mit einem verlängerten oder beschleunigten Verlauf des inflammatorischen Prozesses einhergeht [60, 61]. Die Entwicklung eines Biofilms innerhalb der ersten Stunden nach Implantatoperation und die subklinische Infektion des Fremdmaterials werden als starker Einflussfaktor für die Ausbildung der Kapselfibrose angesehen. Der Biofilm ist ein Oberflächen-assoziiertes Bakterienkonglomerat, welches in der extrazellulären Matrix verankert ist und eine Protektion gegenüber Antibiotika und mechanischen Einflüssen liefert [62]. Heutzutage wird am häufigsten der Staphylokokkus epidermidis als biofilmbildender Keim bezüglich Fremdkörper-assoziierten Infektionen identifiziert [63-69]. Der Prozess der Biofilmbildung wird in drei Schritte gegliedert:

(1) Die initiale Adhäsion an abiotische Oberflächen (Oberflächen verschiedener Medizinprodukte) oder biotische Oberflächen (Gewebe).

- (2) Die interzelluläre Aggregation und Akkumulation, welche durch eine Reihe von Matrixproteinen und nicht-proteinösen polymerischen Substanzen gewährleistet wird.
- (3) Abschließende Abgrenzung [70].

Durch die Eigenschaften der Proteine und Exopolymere, als Bestandteil des Biofilms, wird sowohl die Phagozytose des Fremdkörpers als auch die Aktivität von humanen antimikrobiellen Substanzen verhindert [63]. Hierdurch kann der menschliche Organismus einer anhaltenden subklinischen Infektion nicht ausreichend entgegenwirken. Es kommt zu einem permanenten Entzündungsreiz, welcher durch den Fremdkörper aufrechterhalten wird [47, 71-73].

Je nach Definition wird zwischen einem septischen und einem aseptischen Biofilm unterschieden [74]. Durch verschiedene chemoattraktive Substanzen sowie einigen Zytokinen, als Bestandteil des Biofilms, wird entweder die Fremdkörperreaktion des Implantats zusätzlich aktiviert oder die Signalkaskade bedingt eine Gewebeintegration des Implantats in den Organismus. Aus diesem Grund ist die Oberfläche des Implantats zusammen mit der Entwicklung des Biofilms für die ersten Schritte der Fremdkörperreaktion und der sich dadurch entwickelnden Zellen beteiligt. Bei Implantation von Fremdkörpermaterial in die Mundhöhle, beispielsweise als Zahnersatz, bildet sich ausnahmsweise ein septischer Biofilm, da der Fremdkörper in eine schon bestehende bakterielle Umgebung implantiert wird [75, 76]. In allen anderen Fällen, in denen Fremdkörpermaterial unter sterilen Bedingungen implantiert wird, bildet sich ein aseptischer Biofilm aus. Im Zusammenhang mit Brustimplantaten muss allerdings beachtet werden, dass die Milchgänge der menschlichen Brust kein vollständig aseptisches Operationsgebiet bieten, da eine physiologische und eine teilweise pathologische bakterielle Besiedlung mit dem Keim Staphylokokkus epidermidis vorhanden ist [77]. Hierdurch kann eine über Jahre andauernde subklinische Infektion aufrecht erhalten bleiben [78-81]. Die höchste Inzidenz der Kapselfibrose besteht, nachdem ein Silikongelimplantat in subglandulärer Position durch einen periareolären Zugangsweg implantiert wird, da hierdurch der direkte Kontakt zur physiologischen Keimbesiedlung besteht [82]. Weitere durch Abstriche an Kapseln und Implantaten, sowie durch histologische Nachweise nachgewiesene Bakterien, sind Propionibakterium acnes, Staphylokokkus aureus und Corynebakterien [31, 83, 84]. Diese Keime sind ebenfalls physiologische Kommensale der menschlichen Hautflora [78].

In den letzten Jahren wurde die bakterielle Kontamination als wichtigster Einflussfaktor der Kapselbildung nach Brustrekonstruktion in vielen Studien diskutiert. In Kapseln mit Kapselfibrose konnte vermehrt eine bakterielle Kontamination nachgewiesen werden [47, 72, 83]. Mikrobiologischen Untersuchungen zufolge sind die oben bereits beschriebenen Koagulase-negativen Staphylokokken vom Typ "Staphylokokkus epidermidis" die am häufigsten nachgewiesenen Keime der Kapseln um Silikongelimplantate [82, 85-90]. Schreml et al. sowie weitere Autoren konnten eine signifikante Korrelation zwischen bakterieller Kontamination und der Ausprägung einer höhergradigen Kapselfibrose (Baker III und IV) nachweisen [47, 72, 82, 83]. Bei Kontrakturen mit klinischem Baker-Grad I und II war hingegen keine bakterielle Kontamination nachzuweisen [83].

Um dieses Problem der bakteriellen Kontamination genauer zu analysieren, stellten Arbeitsgruppen verschiedene Tiermodelle mehrere und therapeutische Behandlungsansätze vor. Tamboto et al. entwickelten ein in vivo Tiermodell mit Schweinen, in welchem sie den Tieren Miniatur-Silikongelimplantate einsetzten. Bei einer Gruppe kontaminierten sie die Implantate mit einer Staphylokokkus epidermidis Suspension. Nach 13 Wochen teilten sie die Implantate klinisch nach dem Baker-Grad ein und untersuchten weitere Parameter unter dem Mikroskop [71]. Anhand des Tiermodells zeigten sie, dass eine Bakterien-Instillation mit Koagulase-negativen Staphylokokken um Silikongelimplantate zur Ausbildung dickerer Kapseln führte. Hinsichtlich der zu erwartenden unterschiedlichen Entzündungsreaktion gab es interessanterweise keine signifikanten Unterschiede von inokulierten zu steril eingesetzten Implantaten.

In einem ähnlichen Versuchsaufbau mit Hasen konnten Marques et al. ebenfalls dickere Kapseln nach bakterieller Inokulation gegenüber steril eingesetzten Implantaten nachweisen [84]. In der kontaminierten Untersuchungsgruppe wiesen sie in der Hälfte aller untersuchten Implantate eine polymorphe Entzündung nach. Eine dickere Kapsel ist zwar nicht mit der Entwicklung einer Kapselfibrose gleichzusetzen, doch konnte in den

späten 1970er Jahren gezeigt werden, dass es sich bei Kapseln mit Kapselfibrose um signifikant dickere Kapseln handelte, als bei solchen ohne Kontrakturen [9]. Heutzutage werden ebenfalls in der überwiegenden Anzahl von nachgewiesenen kontrakten Kapseln eine vorliegende subklinische Infektion der Implantate festgestellt [72, 82, 91, 92].

1.3.3 Untersuchungen und Ansätze zur Reduktion der Kapselfibrose

Um die Entstehung der Kapselfibrose zu verstehen und Ansätze zu dessen Reduktion zu etablieren, ist es wichtig, den histologischen Aufbau der Kapsel zu verstehen. In der Publikation von Poeppl et al. wird ersichtlich, dass eine Kapsel im nicht kontrahierten Zustand aus drei Zonen besteht, die deutlich voneinander abzugrenzen sind und sich je nach Oberflächenbeschaffenheit voneinander unterscheiden [6].

1.3.3.1 Kapselarchitektur

Die innerste, dem Implantat zugewandte Schicht, zeichnet sich durch Makrophagen mit einem eventuellen Vorkommen einer pseudoepithelialen Grenzschicht, der sogenannten synovialen Metaplasiezone (SLM), aus. In dieser Zone kommen keine Fibroblasten und nur vereinzelte Makrophagen vor. Die mittlere Schicht ist durch das Vorkommen lockeren Bindegewebes gekennzeichnet. Neben inflammatorischen Zellen und Makrophagen lassen sich in diesem Abschnitt der Kapsel viele Fibrozyten nachweisen. Die äußere Schicht weist je nach Oberflächenbeschaffenheit des Implantates eine Zone mit dichten parallel- oder multizentrisch angeordneten Kollagenfasern auf [93, 94].

In einer ultrastrukturellen Untersuchung konnten Rubino et al. im Jahre 2001 zwei zusätzliche Zonen mit erhöhter Vaskularisierung in kontrakten Kapseln nachweisen. Die Blutgefäße waren als Intermediärzonen zwischen den Schichten gelegen. Sie nahmen an, dass diese Vaskularisierungsschicht Ausgangspunkt für eine erhöhte Fremdkörperreaktion und somit der Kapselfibrose sein könnte. Im Gegensatz zu vielen anderen Arbeiten konnten Rubino et al. jedoch keine Unterschiede in der Kapselarchitektur zwischen texturierten und glatten Implantaten feststellen [95].

Weitere Aspekte, die in der Kapselentstehung nach Einsatz eines Silikongelimplantats eine wichtige Rolle spielen, sind in den Klassifikationssystemen zu finden [9, 96, 97].

1.3.3.2 Klassifikationssysteme

Für die Einteilung der Kapselfibrose im klinischen Alltag wird die Baker-Klassifikation verwendet [98]:

Kapselgrad	Charakteristika			
Grad I	Implantat nicht fühlbar, Konsistenz weich			
Grad II	Implantat fühlbar, nicht sichtbar, weniger weich als nicht augmentierte Brust			
Grad III	Implantat fühlbar und sichtbar, Brust deutlich härter, Patientin spürt Verhärtung			
Grad IV	Implantat sichtbar disloziert, Brust hart und schmerzhaft			

Tabelle 2: Einteilung der Kapselfibrose nach Baker [98]

Die Festlegung des Kapselgrades in der Klassifikation nach Baker erfolgt auf Grundlage des klinischen Untersuchungsbefundes und wird von dem Untersucher und somit auf subjektiver Basis, festgelegt. Die Einteilung in einen der vier Grade ist daher stark von der Expertise des einzelnen Untersuchers abhängig [99]. Alfano et al. stellten 2004 ein neues System zur Klassifikation der Kapselfibrose vor. Sie entwickelten das "Anton Paar Mammacompliance system", mit dem sie maschinell mehrere Druckmessungen vornahmen und dadurch einen objektiveren Bewertungsmaßstab etablierten [99]. Wilflingseder et al. entwickelten 1974 ebenfalls ein neues Klassifikationssystem (siehe Tabelle 3). Statt auf dem klinischen Befund basiert dieses System auf einer histologischen sowie immunhistochemischen Beurteilung der Kapsel [100].

Die folgende Tabelle zeigt das Klassifikationssystem nach Wilflingseder:

Vancalarad	Charakteristika		
Kapselgrad	Criarakteristika		
Grad I	dünne Kapsel, physiologische Gewebereaktion auf das Implantat, para angeordnete Kollagenbündel		
Grad II	zwei- dreifach dickere Kapsel, z.T. multidirektionales Bindegewebe, vereinzelte metaplastische Zellen und Histiozyten		
Grad III	zu den Merkmalen des zweiten Grades sind sog. PAS-positive Riesenzellen zu erkennen		
Grad IV	die Kapsel ist bis zu zehnmal so dick wie in Grad 1, es sind deutliche inflammatorische Reaktionen zu erkennen, positiver Nachweis von Granulomen		

Tabelle 3: Einteilung der Kapselfibrose nach Wilflingseder [100]

Poeppl et al. beschrieben eine signifikante Korrelation zwischen der Anwendung der Klassifikationssysteme von Baker und Wilflingseder [6].

Durch neue Studienergebnisse, welche die Relevanz von T-Lymphozyten als Ausdruck einer chronischen Entzündung im Hinblick auf die Kapselfibrose beschreiben, schlugen Bergmann et al. in einer Vorarbeit zu dieser Studie eine Modifikation des Wilflingseder-Scores vor (siehe Tabelle 4) [101]. Grundlegende Veränderung dieses Scores ist die Einbeziehung der Lymphozyten und die Beschreibung einer synovialen Metaplasiezone (SLM), die in der Literatur zunehmend in Verbindung mit der Ausbildung einer fibrotischen Kapsel gebracht wird [102].

Die folgende Tabelle zeigt den weiterentwickelten Score von Bergmann et al. [101]:

Kapselgrad	Grad I	Grad II	Grad III	Grad IV
Kapseldicke (in mm)	1	2-3	2-3	5-10
Zelllagen	eine	zwei-vier	zwei-vier	nekrotisch
Kollagenbündel	parallel	parallel/multi- direktional	multidirektional	multidirektional
Granulome	-	-	-	+
Histiozyten	-	+	++	+++
Lymphozyten	-	+	++	+++
Granulozyten	-	+	++	+++
Dicke der SLM (in mm)	-	+	++	+++

Tabelle 4: Einteilung der Kapselfibrose nach Bergmann [101]

Ein wichtiger Parameter zur Beurteilung der Kapselarchitektur ist die Ausrichtung der Kollagenfasern. Die Ergebnisse aller histologischen Studien zeigen, dass kollagenbildende Fibroblasten neben Makrophagen die vorherrschenden Zellpopulationen der Kapsel sind [103].

Die Kapseldicke den Klassifikationssystemen ebenfalls ist in ein fester Untersuchungsparameter für die Einteilung des Kapselgrades. In der Ausprägung der Kapseldicke scheinen die Myofibroblasten eine wichtige Rolle zu spielen. Hwang et al. konnten in ihrer Arbeit aus dem Jahre 2010 eine Korrelation der Kapseldicke mit dem Auftreten von Myofibroblasten zeigen [104]. Myofibroblasten sind als ein Zelltyp charakterisiert, der sowohl über eine endogene Kollagenproduktion verfügt als auch ein kontraktes Potential besitzt, das durch den Aktin-Myosin-Komplex gewährleistet ist. Sie stellen eine Mischform zwischen Fibroblast und glatter Muskelzelle dar. Welche Rolle der Anteil an Myofibroblasten an der Gesamtkapsel hat und welchen Einfluss dieser Zelltyp auf das kontrakte Potential besitzt, wird zurzeit intensiv untersucht. In 71% der Fälle konnten Hwang et al. Myofibroblasten in den Kapseln histologisch nachweisen [104]. Dieses Ergebnis ähnelt dem von Rudolph et al. (80%) aus dem Jahre 1978 [105].

1.3.3.3 Synoviale Metaplasiezone

Eine synoviale Metaplasiezone (SLM) findet sich in 40 % - 87 % der untersuchten Kapselpräparate [102, 106-108]. Diese Zone ist durch hochprismatische Zellen mit ovalen bis runden basalen, pallisadenartigen Zellkernen gekennzeichnet [6, 97, 107]. Diese metaplastischen Zellen besitzen sowohl eine phagozytotische als auch eine Synoviasezernierende Funktion [6]. Die Ätiologie ist bis heute nicht geklärt [97, 109]. Diskutiert werden sowohl mechanische Einflüsse (Scherkrafteinwirkung, Gewebeausdehnung und Oberflächenbeschaffenheit der Implantate) als auch physikalische und chemische Reize (z.B. Polyurethanschaum) [110].

Copeland et al. waren die ersten, die eine SLM bei Brustimplantaten beschrieben. Bei dem Vergleich von texturierten und glatten Implantaten wiesen sie bei denen mit texturierter Oberfläche signifikant häufiger eine SLM nach [107]. Ko et al. sahen im Gegensatz zu den ersten Untersuchungen von Copeland et al. keine Unterschiede bezüglich des Implantattyps. Sie konnten keine Korrelation zwischen dem Auftreten einer SLM und einer stärkeren Fibrosierung feststellen. Sie nahmen an, dass die SLM als Reifungsprozess der Kapsel fungiert, da sie über die Zeit hinweg eine deutliche Abnahme der SLM in Kapseln explantierter Implantate beobachteten [106].

Raso et al. postulierten 1995, dass sich eine SLM durch physikalische und chemische Reize der Silikonprothesen sowie einen permanenten mechanischen Stress auf das Implantat selbst, ausbildet. Auf dieser Theorie basierend, erklärten sie, dass es unter der Ausbildung von Gleitmitteln zu einer Reduktion der Fibrosierung der Kapsel kommt [110]. Andere Autoren sehen jedoch in der gleichen Ursache den entgegengesetzten Prozess und vermuten, dass die metaplastische Zone der Anstoß zur Ausbildung einer stärkeren Fibrosierung darstellt [102]. Trotz der gegensätzlichen Standpunkte über den Einfluss der SLM auf die Bildung der periprothetischen Kapsel, existieren weitere Studien, deren Ergebnisse keine konkreten Schlüsse zu einem dieser Standpunkte zulassen [6, 102, 107, 111].

1.3.3.4 Ansätze zur Reduktion der Kapselfibrose

Seit 1963 wurden Silikongelimplantate kontinuierlich weiterentwickelt. Brustimplantathersteller werben mit einem natürlichen Aussehen und einer hohen Sicherheit. Trotz der vielen materialtechnischen Veränderungen bleibt jedoch immer ein gewisses Risiko gegenüber dem Fremdkörper bestehen. In der Literatur wird häufig die Komplikation Kapselfibrose diskutiert. Inzwischen existieren zahlreiche Untersuchungen und Ansätze zu dessen Reduktion. Um die Jahrtausendwende lieferten sowohl intraoperative topische Antibiotikazusätze als auch beschichtete Implantate bei Implantation in tierexperimentellen Untersuchungen neue Ansätze zur Reduktion des kontrakten Potentials der periprothetischen Kapsel sowie einer bakteriellen Besiedlung.

Zimman et al. konnten 2007 eine Reduktion der Kapselfibrose durch die Gabe eines ACE-Hemmers feststellen [112]. Die Idee hinter dieser Theorie lieferten Studien, die eine signifikante Reduktion in der Bildung kollagenen Bindegewebes bei Leberfibrose [113] und in der Untersuchung von weiteren Organen [114] nach der Behandlung mit einem ACE-Hemmer zeigten. Der ACE-Hemmer bedingt eine Herunterregulierung des "Transforming Growth Factor" (TGF)-beta 1, ein Schlüsselzytokin in der Kaskade der Fibrosierung [112].

Durch die Gabe von Zafirlukast konnten Moreira et al. [115] und Bastos et al. [116] eine dünnere Kapsel mit geringerer entzündlicher Zellinfiltration der Kapsel nachweisen. Zafirlukast ist ein Leukotrienrezeptor-Antagonist, welcher sehr früh in die Entzündungskaskade eingreift und den Rezeptor kompetitiv blockiert. Die durch Leukotriene vermittelte positive Chemotaxis wird gehemmt und der entstehende Entzündungsreiz auf die Kapsel reduziert. Etwa zeitgleich wurden im Jahre 2009 durch den Einsatz von Verapamil ähnliche Ergebnisse publiziert [117]. Verapamil fungiert als Kalzium-Kanal-Blocker und beeinflusst zum einen die Wundheilung und zum anderen spielt Kalzium als intrazellulärer Botenstoff in der Kollagensynthese eine maßgebliche Rolle, welche durch Verapamil inhibiert wird. Neben intraoperativen Zusätzen wurde ebenfalls nach neuen Beschichtungen für Silikongelimplantate gesucht. Gosau et al. konnten in ihren Untersuchungen [118, 119] zeigen, dass sich eine Beschichtung mit Kupfer positiv auf die Bakterienadhärenz auswirkt. Der schon vorher beschriebene

antibakterielle Effekt des Kupfers [120] könnte durch eine Reduktion der bakteriellen Kontamination für einen Rückgang in der Inzidenz der Kapselfibrose sorgen.

Inzwischen ist erwiesen, dass die Infektion einen entscheidenden Stellenwert in der Pathogenese der Kapselfibrose einnimmt. Viele Studien konnten zeigen, dass sich die periprothetische Kapsel durch die Gabe antibiotisch wirkender Substanzen im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen geringer ausgeprägt. Eine komplette Verhinderung der Kapselbildung konnte durch diese Substanzen allerdings nicht gezeigt werden [74].

Ein wichtiger experimenteller Ansatz stellt die Entwicklung von neuen Oberflächen dar. Bei der Benutzung von titanisierten Silikongelimplantaten erhoffte man sich eine verbesserte Biokompatibilität durch diese Beschichtung. Seit 2004 sind diese nicht mehr auf dem Markt zu erhalten, da es an grundlegenden Studien fehlte und keine juristische Zulassung vorlag [121]. Titan gilt jedoch weiterhin als besonders biokompatibles Material mit einer zusätzlich vermuteten antimikrobiellen Wirkung und ist derzeit Bestandteil intensiver Forschungen.

1.4 Implantattechnologie

Neben den verschiedenen Generationen der Implantate, welche zu mehr Natürlichkeit der rekonstruierten Brust führen sollten, wurden über die Jahre zusätzlich neue Oberflächenbeschaffenheiten entwickelt, um eine bessere Biokompatibilität der Implantate zu gewährleisten. Als Grundbaustein der Silikone gelten aneinandergereihte Siloxaneinheiten (Si-O), die sich jeweils aus einem Silizium- und einem Sauerstoffatom zusammensetzen. Das bekannteste Beispiel eines solchen Polymers ist das Polydimethylsiloxan (PDMS) (siehe Abbildung 1 und Abbildung 2).

$$CH_3$$
 O
 Si
 CH_3
 CH_3

Abbildung 1: Beispielhafte Darstellung des PDMS [122]

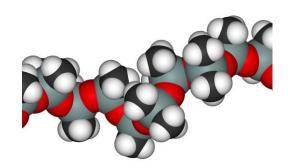


Abbildung 2: Darstellung des dreidimensionalen Netzwerks des PDMS [122]

PDMS ist ein öliger und klebriger Flüssigstoff, der durch größere Kettenlängen (≜ höheres Molekulargewicht) an Viskosität zunimmt. Durch die Vernetzung der Si-O-Einheiten ergeben sich wichtige Eigenschaften des Silikons:

- Geringe Wärmeleitfähigkeit
- Hohe Wärmebeständigkeit chemische und physikalische Eigenschaften ändern sich nur minimal zwischen -100 °C und +250 °C
- Hohe chemische Resistenz gegenüber Sauerstoff, Ozon und ultraviolettem
 Licht [122]

Aufgrund der hohen Stabilität und Wärmebeständigkeit von Silikon-basierten Medizinprodukten ist es möglich, diese Produkte vor Gebrauch zu autoklavieren, ohne dabei ihre chemischen Eigenschaften, sowie ihre Struktur zu verändern. Neben der Verwendung als Silikongelimplantat in der Brustchirurgie wird Silikon in diversen medizinischen Bereichen verwendet. Weiteren Einsatz findet Silikon in Produkten wie künstlichen Herzklappen, Kontaktlinsen, Kathetern, Dialyseschläuchen und bei fazialen

Rekonstruktionen [123, 124]. Je nach Länge der repetitierenden Si-O-Einheiten unterscheidet man fünf Gruppen industriellen Silikons: Gleitmittel, Flüssigkeiten, Mischpräparate, Harze und Gummis [125].

Die heute verwendeten Brustimplantate besitzen als Grundsubstanz ihrer Hülle weiches Silikongel. Die Hülle ist entweder ein- oder zweischichtig aufgebaut. Dieses Mehrschichtmembransystem verhindert ein Austreten von Silikongel. Die innere Silikon-Elastomerschicht dient als Barriere gegenüber Silikonölen. Die äußere Hülle der Implantate dient als Funktionsmembran und zur Unterscheidung der Implantate. Sie ist in glatter oder texturierter Form auf dem Markt erhältlich. Eine weitere Gruppe der Implantate ist durch eine zusätzliche Polyurethanschaumhülle gekennzeichnet [122].

Die Brustimplantate unterscheiden sich neben ihrer Oberfläche zusätzlich durch ihre Form und ihr Füllungsmaterial. In den letzten Jahren wurde ein Großteil der Implantate mit einem hochvernetzenden PDMS-Silikongel ausgestattet. Dadurch ist es dem Implantat möglich, auch nach mechanischen Belastungen in die ursprüngliche Form zurückzukehren. Diese Eigenschaft des Silikons wird als "Memory-Effekt" beschrieben und wird durch eine stärkere dreidimensionale Vernetzung der Siloxaneinheiten untereinander gewährleistet. Einen weiteren Implantattyp bilden die mit Kochsalz gefüllten Implantate. Eine Sonderform von Implantaten sind die sog. Expander-Implantate. Diese werden zumeist in mehreren Schritten über ein Ventil nach abladierenden Eingriffen aufgefüllt bis eine ausreichende Hautdehnung für das eigentliche Implantat geschaffen ist [126].

1.5 Oberflächen

Seit Beginn der Verwendung von Brustimplantaten, wurden Studien publiziert, welche sich mit der Auswirkung der Oberflächen auf die entstehende Kapsel beschäftigten. Es konnte gezeigt werden, dass die Oberflächenbeschaffenheit maßgeblich an der Entstehung der Kapselarchitektur beteiligt ist [39]. Derzeit werden in Europa drei verschiedene Oberflächenbeschaffenheiten (texturierte-, glatte- und mit Polyurethanschaum ummantelte Oberflächen) von Implantaten angeboten. Bei Betrachtung des Einflusses der Oberflächenbeschaffenheit auf die entstehende Kapsel gilt

es besonders die Arbeit von Wyatt et al. zu beachten. Bei der Überprüfung von glatten und texturierten Silikongelimplantaten fanden sie heraus, dass nicht nur die Art der Oberfläche, sondern auch die Liegezeit der Implantate beachtet werden muss, da die Kapselentwicklung als ein dynamischer Prozess zu verstehen ist [111].

1.5.1 Texturierte Implantate

Die Texturierung bei Brustimplantaten erfolgte erstmals Mitte der 1980 Jahre [6]. Sie stellt ein Anrauen der Oberfläche dar, sodass es durch viele kleine Poren zu einer Oberflächenvergrößerung kommt. Dadurch sollte ein besseres Zusammenwachsen des Implantats mit dem umliegenden Gewebe bewirkt werden. Das Ziel war die Ausbildung einer multidirektionalen Ausrichtung der Kollagenfasern. Dadurch erhoffte man sich eine bessere Gewebeintegrität und eine Reduktion des kontrakten Potentials der Kapsel [30].

In darauffolgenden Studien konnten erfolgsversprechende Ergebnisse geliefert werden, die vor allem einen Rückgang in der Inzidenz der Kapselfibrose vermerkten [6, 56, 127, 128]. Im Vergleich zu glatten Oberflächen Silikon gefüllter Implantate konnte ein Großteil der Studien eine erniedrigte Tendenz an Kapselfibrose bei texturierten Implantaten nachweisen [39, 127, 129-131]. Häufig wurde als Grund ein multidirektionales Bindegewebe für das verringerte kontrakte Potential der Kapsel angenommen [111, 132, 133]. Poeppl et al. konnten zwar bei 17,2 % der untersuchten Kapseln eine Multidirektionalität feststellen, doch ergaben sich keine Unterschiede bezüglich der Oberflächen (glatte vs. texturierte Oberflächen) [6]. Des Weiteren konnte nicht nur die multizentrische Ausrichtung bei texturierter Oberfläche im Verlauf gezeigt werden, sondern ebenfalls der parallele Verlauf von Kollagenfaserbündeln bei Implantaten mit glatter Oberfläche nachgewiesen werden [111].

In anderen Studien, in denen der Langzeiteffekt der Kapseln untersucht wurde, konnte festgestellt werden, dass die erniedrigte Inzidenz der Kapselfibrose bei texturierten Implantaten lediglich in den ersten Jahren zu beobachten ist. Im weiteren Verlauf konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Oberflächen gesehen werden [39, 55, 97, 102, 134, 135].

Neben den vielversprechenden mikroskopischen Ergebnissen konnten Hakelius und Ohlsen eine geringere Verhärtung der Brüste nach der Implantation von Implantaten mit texturierten Oberflächen im Vergleich zu glatten Implantaten zeigen [129].

Bei der Überprüfung mit Kochsalz befüllter Implantate mit glatter- und texturierter Oberfläche konnten Tarpila et al. sowie Friemann et al. sowohl makroskopisch, als auch mikroskopisch keine Unterschiede in der Inzidenz der Kapselfibrose nachweisen [135, 136]. Dies bestätigte eine Untersuchung mit 1655 Brustimplantaten über einen Zeitraum von 15 Jahren, bei welcher ebenfalls keine Korrelation zwischen Kapselfibrose und dem Füllmaterial bestand [39].

1.5.2 Polyurethan-Implantate

Eine weitere Oberflächenbeschaffenheit stellen die Silikonimplantate mit einem Polyurethan-Schaum auf der Oberfläche dar. Diese werden seit 1970 verwendet [137]. Das verwendete Polyurethan zur Ummantelung der Implantate ist ein Polyesterurethan. Es setzt sich aus "polyethylene glycol adipate" (PEGA) und Toluylendiisocyanat (TDI) zusammen. TDI ist instabil und wandelt sich durch Hydrolyse zu 2,4-Toluenediamine (TDA) um [138]. Seit einem Bericht von Batich et al. [139], in dem sie eine Kanzerogenität des TDA in einem Mausmodell beschrieben, untersagte die FDA im Jahre 1989 den Vertrieb von PU-Implantaten. Obwohl in folgenden Kontrollen gezeigt werden konnte, dass kein Nachweis auf Kanzerogenität im menschlichen Organismus zu befürchten sei [140], wird die Verwendung der Implantate in den USA bis heute untersagt. Die Idee hinter dieser Oberflächenbeschichtung war eine Inhibierung der Fibroblasten und der entstehenden Fremdkörperreaktion. Die feine Struktur des Schaums der Implantate führt zu einem geringeren Einwandern von Fibroblasten und kann dadurch den Prozess der Fibrosierung verlangsamen oder ggf. verändern [141]. Durch ein ungeordnetes Einwachsen des Kollagens bedingt der Schaum eine gute Gewebeintegrität mit einem geringeren Verrutschen der Implantate. Seit Einführung der PU-Implantate herrscht eine kontroverse Diskussion, in der viele Studien einen Rückgang in der Inzidenz der Kapselfibrose nachweisen konnten [132, 142, 143].

1.5.3 Titanisierte Silikongelimplantate

Als vielversprechender Ansatz gilt die Verwendung von Brustimplantaten in Kombination mit dem Werkstoff Titan. In der Medizin wird Titan als äußerst biokompatibles Material angesehen. Besonders in der Orthopädie [144] wird es aufgrund der sehr guten Osseointegration anderen Materialien vorgezogen [145, 146]. Neben dem strukturellen Verbund zwischen Gewebe und Oberfläche wird Titan weiterhin eine geringere Infektionsrate nachgesagt. Arens et al. bestätigten in ihrer Studie beide Aspekte [147].

Im Jahre 2002 standen titanisierte Silikongelimplantate in der Brustchirurgie als Alternative zu den herkömmlichen Implantaten zur Verfügung [148]. Obwohl diese zwei Jahre später wieder vom Markt genommen wurden, bleibt die Kombination von Brustimplantat und Titan Bestandteil weiterer Forschung. Hernandez-Richter et al. [148] Bergmann et al. [121] untersuchten titanisierte Silikonprothesen sowie tierexperimentellen Studien an Ratten. Beide konnten einen Einfluss der veränderten Oberfläche auf die Kapselarchitektur und die Gewebeintegration nachweisen. Hernandez-Richter et al. konnten zwar keine Unterschiede in der antimikrobiellen Wirkung verzeichnen, doch stellten sie interessanterweise eine verminderte Integration der mit Titan beschichteten Implantate ins umliegende Gewebe fest. Welchen Effekt diese verminderte Gewebeintegration im Langzeitverlauf haben wird, bleibt allerdings weiter ungeklärt [148]. Bergmann et al. hingegen zeigten einen ähnlichen Kapselaufbau im Gebrauch titanisierter Implantate mit der Tendenz zur Ausprägung einer dünneren Kapsel im Vergleich zu herkömmlichen Implantaten. Sie weisen jedoch ebenso darauf hin, dass Studien folgen müssen, die unter Einbeziehung größerer Versuchsgruppen den Einfluss von Titan als gewebeverträgliches Material genauer untersuchen [121].

1.6 Ausblick auf neue Beschichtungen

Den Ursprung eines neuen Ansatzes zur Verwendung von Titan lässt sich in der Abdominalchirurgie finden. F. Usher verwendete 1962 als erster ein Polypropylennetz. Seitdem wurden die Netze kontinuierlich weiterentwickelt und der Gebrauch der Polypropylennetze stieg stetig an [149]. Besonders in der Hernienchirurgie konnten diese

Netze zum Verschluss und Stabilisierung der Bruchpforten überzeugen [150, 151]. Im Jahre 2004 postulierten Schardey et al., dass die Polypropylennetze eine erhebliche Schrumpfungstendenz aufwiesen. Weiterhin zweifelten sie an der Biokompatibilität dieser Netze. Sie beobachteten eine chronische Entzündungsreaktion im umliegenden Gewebe dieser Netze und machten die überproportionale Materiallast und eine Penetration der umliegenden Organe dafür verantwortlich [152].

Unter Verwendung des PACVD-Verfahren (plasma activated chemical vapor deposition) entwickelte die 2002 gegründete Firma "pfm medical titanium GmbH" ein Polypropylennetz, welches an der Oberfläche eine Titanschicht aufwies. Nach Herstellerangaben sollten diese titanisierten Polypropylennetze sowohl eine verbesserte Biokompatibilität als auch eine antimikrobielle Wirkung aufweisen. In dem PACVD-Verfahren kommt es zu einer kovalenten Verbindung zwischen dem Polypropylen und der Titanoxidoberfläche. Die Anregung beider Komponenten führt zur Ausbildung freier Elektronen die eine kovalente Bindung möglich machen [153]. Die entstehende Titanschicht ist 30 nm dünn, wodurch sie transparent und äußerst flexibel wird.

Scheidbach et al. zeigten eine Überlegenheit von titanisierten Polypropylennetzen (sog. Ti-Mesh) gegenüber drei anderen Netzen sowohl im Hinblick auf Entzündungsaktivität, als auch auf die Schrumpfungstendenz [149]. Eine besonders leichte Modifikation des titanisierten Polypropylennetzes (TCPM) ist in der Brustchirurgie verfügbar. Im Gegensatz zu anderen Netzen ist das Polypropylennetz hydrophil. Es wird davon ausgegangen, dass es hierdurch zu einer besseren Vereinigung mit dem anliegenden Gewebe kommt. Durch eine Minimierung der Materiallast von 16 bzw. 35 g/m², einer Zunahme der Porengröße auf 1 mm sowie der Reduzierung der Materialoberfläche durch Benutzung monofilen Materials ist das Netz besonders leicht und flexibel. Das TCPM (TiLoop Bra®) wird während der Operation unter geringer Spannung um den unteren Pol des Implantats gelegt, sodass eine Dislokation im Bereich der Submammärfalte nach kaudolateral hin verhindert wird [154].

Dietrich et al. führten in ihren beiden Arbeiten 2012 mikroskopische Untersuchungen von Gewebe durch, das unmittelbar an das Netz angrenzte. Sie berichteten dabei über eine

verbesserte Biokompatibilität sowie eine geringere Entzündungsreaktion des umliegenden Gewebes nach der Netzeinlage. In einer histologischen Aufarbeitung der Kapsel einer Patientin wiesen sie ein dichtes Kollagengeflecht um das Netz mit einer nur milden Infiltration von Entzündungszellen nach [155, 156].

Zusammenfassend gibt es viele Ansätze zur Reduktion der Kapselfibrose. Bisher konnten vielversprechende Ergebnisse durch Variation von Oberflächenbeschaffenheit und material erzielt werden. Fortschritte konnten dabei durch Verwendung von titanisierten Oberflächen erzielt werden. Deshalb lässt sich mutmaßen, dass auch titanisierte Polypropylennetze, die bisher zur Verstärkung des Haut-Weichteilmantels im Rahmen von Brustrekonstruktionen und in der Bauchchirurgie zum Einsatz kommen und im Allgemeinen gut vertragen werden, im Zusammenspiel mit Silikonimplantaten zu einer Reduktion der Kapselfibrose führen könnten. Dies sollte im Rahmen dieser Arbeit untersucht werden.

2 Fragestellung

Aus den bisherigen Kenntnissen der Kapselarchitektur und dem Einfluss von verschiedenen Oberflächenbeschaffenheiten und - materialien auf die Ausbildung einer Kapselfibrose lassen sich die folgenden Hypothesen ableiten:

- I. Die Oberflächenbeschaffenheit verschiedener Materialien hat einen Einfluss auf die Kapselarchitektur.
- II. Eine Umhüllung mit titanisierten Polypropylennetzen bewirkt eine Verminderung der Fremdkörperreaktion im Vergleich zu herkömmlichen Implantaten.
- III. Die Ausprägung der Kapselfibrose und die Kapselarchitektur werden durch eine bakterielle Kontamination beeinflusst.

Diese Hypothesen sollten in dieser Arbeit anhand von tierexperimentellen Versuchen überprüft und analysiert werden. Insgesamt war das Ziel, die Biokompatibilität unterschiedlicher Silikonprothesen unter spezieller Betrachtung der antiinflammatorischen Wirkung mithilfe eines Tiermodells zu beurteilen.

3 Material und Methode

3.1 Tierkollektiv

In unserer Studie verwendeten wir weibliche Ratten des Wistar-Stammes (Charles River Laboratories, Sulzfeld) mit einem Ausgangsgewicht von 200 Gramm. Eine Woche vor der geplanten Operation wurden die Ratten in den Räumlichkeiten der Gemeinsamen Tierhaltung der Universität zu Lübeck (GTH) zur Akklimatisation untergebracht. Die Genehmigung durch das Ministerium für Landwirtschaft und Umwelt des Landes Schleswig-Holstein zur Durchführung der Tierversuche lag vor Beginn des Versuchs vor (Aktenzeichen: V 312-72241. 122-25 (2-1/12)).

Wir teilten die Tiere in vier Versuchsgruppen auf (siehe Tabelle 5), bestehend jeweils aus 20 Ratten. Zwei Versuchsgruppen wurden mit einem TiLoop Bra®-Netz (pfm-medical, Köln) überzogenen Implantat ausgestattet; als Kontrolle wurden die anderen beiden Versuchsgruppen mit einem herkömmlichen texturierten Implantat versorgt. Um den Stellenwert einer bakteriellen Kontamination in der Ausbildung der Kapselfibrose zu untersuchen, wurde jeweils einer der Gruppen mit dem gleichen Implantat intraoperativ eine Bakteriensuspension bestehend aus 3,2 x 10⁶ CFU des Bakteriums Staphylokokkus epidermidis in die Implantattasche injiziert.

Versuchsgruppe	Untergruppe	Implantate	Bakterielle Kontamination
1	a (n = 20)	Texturierte Silikongelimplantate	Nein
	b (n = 20)	Texturierte Silikongelimplantate	Ja
2	a (n = 20)	Mit einem titanisierten Polypropylennetz um-hüllte glatte Silikongel-implantate (TiLoop Bra®, pfm medical, Köln)	Nein
	b (n = 20)	Mit einem titanisierten Polypropylennetz um-hüllte glatte Silikongel-implantate (TiLoop Bra®, pfm medical, Köln)	Ja

Tabelle 5: Gliederung der Untersuchungsgruppen

3.2 Verwendete Implantate

In unserer Studie verwendeten wir mit Silikongel gefüllte Mini-Implantate der Firma Silimed (Sāo Paulo, Brasil). Diese Implantate hatten die Größe einer Ein-Euromünze und passten somit gut in das Dorsum der Ratten. Es kamen texturierte, sowie glatte Oberflächen zur Anwendung. Anders als es im klinischen Gebrauch üblich ist, umhüllten wir die glatten Implantate präoperativ mit einem titanisierten Polypropylennetz (TiLoop Bra®, pfm medical, Köln) und adaptierten die Kanten mit Nahtmaterial (siehe Abbildung 3).



Abbildung 3: Darstellung der verwendeten Implantate (links: Texturiertes Silikongelimplantat im Vergleich zu einer Ein-Euromünze; rechts: Netzumhülltes Silikongelimplantat)

3.3 Operationsvorbereitung

Die Operationen zur Implantation führten wir im Zeitraum von Mai 2012 bis August 2012 in den Räumen der Gemeinsamen Tierhaltung (GTH) der Universität zu Lübeck durch. Zur Narkose sedierten wir die Tiere mit CO₂. Dazu wurden die Tiere in einer verschlossenen Kammer hochkonzentriertem CO₂-Gas ausgesetzt. Im Anschluss erfolgte die intraperitoneale Gabe von 50 mg/kg Ketamin (Ketanest 100 mg/ml; Fort Dodge Laboratories, Iowa/USA) und 1,3 mg/g Xylazin (Rompun 20 mg/ml; Bayer Corporation, Kansas/USA) gewichtsadaptiert.

3.4 Operation

Um sterile Bedingungen zu schaffen, arbeiteten wir mit sterilen Abdecktüchern und sterilem Operationsbesteck. Zunächst wurden die Ratten am Rücken rasiert. Nach der Einwirkzeit der Hautdesinfektion führten wir einen ca. drei cm langen Hautschnitt am Dorsum der Ratte zwischen den Beckenkämmen durch. Über diesen Zugang wurde ein

Areal unterhalb des Panniculus carnosus und oberhalb der Faszie der Rückenmuskulatur von 3 x 8 cm unterminiert. Das jeweilige Implantat wurde möglichst weit kranial oberhalb der Rückenmuskelfaszie implantiert (siehe Abbildung 4).

Insgesamt wurden Daten von 80 Ratten erhoben. Die Ratten wurden in die vier oben beschriebenen Versuchsgruppen eingeteilt (siehe Tabelle 5), die aus jeweils 20 Ratten bestanden. Um die definierte Menge an Bakterien/ml zu isolieren, nutzten wir das Prinzip des McFarland Standards. Dieses beruht auf einer Trübungsmessung aus Bakterienkolonien und Natriumchlorid-Lösung. Nach Bebrütung des Staphylokokkus epidermidis Stammes 1457, ein stark biofilmpositives ZVK-Isolat [157] auf Agarplatten, konnten wir die Bakterien mit einer 1 ml NaCl-Lösung suspensieren. In drei Vorversuchen zur Bestimmung der Bakteriensuspension entschieden wir uns, in Anlehnung an Marques et al. [84], durch Errechnung des Mittelwertes für einen McFarland Standard von 0,5 bei einer Verdünnung von 1:10.000 [158]. Unsere ermittelte Bakterienzahl betrug demnach 3,2 x 10⁷ CFU/ml. Zur Kontrolle injizierten wir den Ratten der Gruppen 1a und 2a 100 μl Kochsalzlösung in die Implantattasche.

Die Operationswunde wurde mittels Klammernahttechnik verschlossen und mit Sprühpflaster eingesprüht. Die Tiere wurden postoperativ täglich beobachtet, auf mögliche Veränderungen hin inspiziert und es folgten regelmäßige Gewichtskontrollen. Die Nahrung bestand während der gesamten Versuchsdauer aus Trockenfutter und Wasser. Nach 60 Tagen wurden die Implantate mit der sich gebildeten Kapsel vom gleichen Operateur explantiert. Dies erfolgte ebenfalls in der GTH.



Abbildung 4: Beispiel eines texturierten Silikongelimplantats in situ der Ratte nach Implantation

3.5 Explantation und Probenverarbeitung

Die Operationsvorbereitungen folgten wie oben bereits beschrieben. Das Implantat wurde über den gleichen Zugang vom selben Operateur unter sterilen Bedingungen explantiert (siehe Abbildung 5 und Abbildung 6) und in den Räumen des Instituts für Mikrobiologie weiter untersucht. Die entnommenen Gewebeproben wurden in 4% Paraformaldehyd (PFA) Lösung fixiert. Ein weiteres Probenexemplar wurde während der Operation in ein Brain Heart Infusion (BHI)-Nährmedium gelegt, um eine mögliche bakterielle Kontamination der Kapsel quantitativ zu erfassen. Eine dritte Probe der Kapsel wurde bei -80 °C fixiert und für mögliche Nachuntersuchungen aufgehoben. Zusätzlich wurde ein Abstrich aus dem Inneren der Kapsel entnommen und im Institut für Mikrobiologie auf Mikroorganismen hin untersucht.

3.5.1 Brain Heart Infusion Agar

Zur quantitativen Untersuchung der Kapsel auf Bakterien entnahmen wir ein Stück der Kapsel und inkubierten es zur Kultivierung der Bakterien bei 37 °C in einem BHI-

Nährmedium. Die Proben wurden täglich beobachtet und bei Eintrübung der Kultur erfolgte ein Blutagarausstrich. Dieser wurde im Institut für Mikrobiologie analysiert.

3.5.2 Untersuchung des Implantats auf mikrobielle Kontamination

Um einen möglichen Biofilm vom Implantat zu lösen ohne dabei die Bakterien zu zerstören, nutzten wir einen niederfrequenten Ultraschall mit geringer Intensität (Frequenz, 40 +/- 2 kHz; Leistungsdichte, 140 Watt_{eff}). Hierfür verwendeten wir ein Ultraschall-Spezialgerät (BactoSonic®). Vorbereitend wurden die Implantate bei der Explantation unter sterilen Bedingungen in ein steriles Gefäß gegeben. In das Gefäß gaben wir zusätzlich 20 ml sterile 0,9 prozentige Natriumchloridlösung hinzu. Vor der Beschallung wurde das Gefäß eine Minute mit einem Vortexgerät geschüttelt und anschließend für eine Minute im Ultraschallbad beschallt. Dieses Vorgehen wurde einmalig wiederholt [31, 159, 160].

Von der entstandenen Suspension wurden 100 µl in einem Ausplattier-Gerät auf einer Blutagarplatte ausgestrichen. Nach 48 Stunden im Brustschrank bei 37 °C untersuchten wir die Platten. Bei einer sichtbaren Kontamination analysierten wir die Bakterien im Institut für Mikrobiologie.

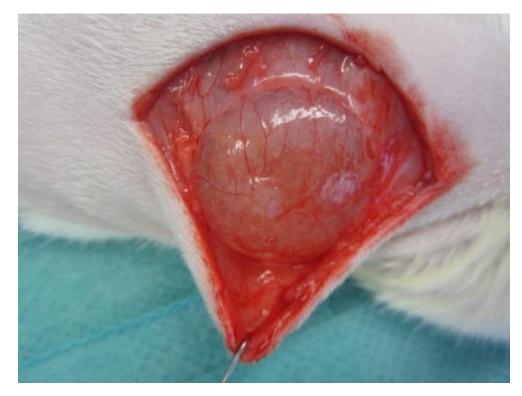


Abbildung 5: Beispiel eines texturierten Silikongelimplantats in situ der Ratte bei Explantation. Die dünne Kapsel mit den intrakapsulären Gefäßen ist gut sichtbar





Abbildung 6: Beispiel eines netzumhüllten Silikongelimplantats in situ der Ratte bei Explantation (links: Implantat mit geschlossener Kapsel; rechts: Zurückbleibende Kapsel nach entferntem Implantat)

3.6 Histologische - und Immunhistochemische Nachweisverfahren

3.6.1 Anfertigung histologischer Schnittpräparate

Die Herstellung der histologischen Schnittpräparate erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Pathologie. Wir wählten eine Schnittdicke von 1,5 µm. Folgende Färbungen

wurden angefertigt: 1.Trichrom-Färbung nach Masson-Goldner, 2. Naphthol-ASD-Chloracetatesterase(N-ASD-C)-Färbung.

Histologische Färbereihe am Beispiel der Trichrom-Färbung nach Masson-Goldner

- 1. Objektträger bei 60 Grad Celsius in den Inkubator (60 Minuten)
- **2.** Absteigende Alkoholreihe:
 - a. Xylol I-IV (je 5 Minuten)
 - **b.** Alkohol 100% I/II (je 3 Minuten)
 - c. Alkohol 96% (3 Minuten)
 - d. Alkohol 90% (3 Minuten)
 - e. Alkohol 80% (3 Minuten)
- 3. Eisenhämatoxylin-Lösung nach Weigert (10 Minuten)
- 4. Spülen: Alkohol 70%
- 5. In Leitungswasser wässern (10 Minuten)
- 6. Spülen: Aqua dest.
- 7. Säurefuchsin-Ponceau (7 Minuten)
- 8. Spülen: 3 x mit 2% Essigsäure
- 9. Phosphormolybdänsäure Orange G (2 Minuten)
- 10. Spülen: 5 x mit 2% Essigsäure
- 11. 2% Essigsäure (5 Minuten)
- 12. 0,2% Lichtgrün (7 Minuten)
- 13. Spülen: 3 x mit 2% Essigsäure
- 14. 2% Essigsäure (5 Minuten)
- 15. Aufsteigende Alkoholreihe:
 - a. Alkohol 96% (2 Minuten)
 - **b.** Alkohol 100% (1 Minute)
 - c. Alkohol 100% (3 Minuten)
 - **d.** Xylol I-IV (je 5 Minuten)
- 16. Mit Vitroclut Deckgläsern eindecken

3.6.2 Naphthol-AS-D-Chloracetatesterase-Färbung

Die angefertigten Rohschnitte wurden nach einer 12-stündigen Trocknung für 10 Minuten in Aceton fixiert. Im Anschluss wurden diese für 5 Minuten in PBS (pH 7,45) gewässert. Zeitgleich wurde ein Gemisch (100 μ l 4%-iges Pararosanilin-HCl + 100 μ l 30%-iges Natriumnitrit) hergestellt. Bei Erreichen eines gelben Farbumschlags musste eine Minute abgewartet werden, bevor es mit 50 ml PBS versetzt und mit einigen Tropfen 1 M HCl auf einen pH-Wert von 6,3 eingestellt wurde.

Jetzt wurden 50 µl Naphthol-AS-D-Chloracetat-Konzentrat hinzugegeben und nochmals gründlich vermischt. Die entstandene Lösung wurde filtriert und in eine Färbeküvette gegeben. Bei Raumtemperatur wurden die Objektträger in der Färbeküvette für 30 Minuten auf einem Schüttler inkubiert. Aufgrund einer Kristallisation der Lösung wurde für die zweite Inkubation eine neue Lösung hergestellt. Um die Zellkerne anzufärben wurden sie für 30 Sekunden mit Hämalaun gegengefärbt und in Leitungswasser gebläut. Anschließend wurden die Präparate wässrig eingedeckt.

3.7 Immunhistochemie

3.7.1 Antigen-Antikörper-Reaktion

Antikörper sind Moleküle, die aus leichten (L-) und schweren (H-) Ketten bestehen. Sie spielen eine wichtige Rolle bei der Abwehr fremder Substanzen und werden von Plasmazellen sezerniert.

Jedes Immunglobulin arbeitet hochspezifisch, das heißt: Es kann nur bestimmte Strukturen (Antigene) eines Krankheitserregers binden. Dabei entstehen die so genannten Antigen-Antikörper-Komplexe. Dieser Vorgang wird in der Immunhistochemie genutzt. Dabei binden spezifische Antikörper an die zu färbenden Strukturen in dem Präparat. Diese können entweder direkt mit einem Farbstoff markiert sein (direkte Immunhistochemie) oder im nächsten Schritt unter Verwendung eines mit einem Farbstoff markierten Zweitantikörpers sichtbar gemacht werden (indirekte Immunhistochemie). Die indirekte Immunhistochemie ist in Abbildung 7 dargestellt.

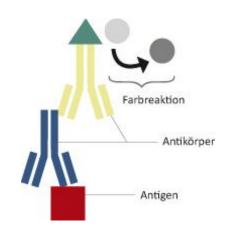


Abbildung 7: Prinzip der indirekten Immunhistochemie

In unserer Studie verwendeten wir eine indirekte Immunhistochemie. Zur Visualisierung der entstandenen Komplexe nutzten wir den Farbstoff Di-amino Benzidin (DAB). Zur Gegenfärbung wurde Hämatoxylin genutzt. Die immunhistochemischen Färbungen erfolgten in Zusammenarbeit mit dem Institut für Pathologie. Für unsere Auswertung wählten wir Antikörper gegen Lysozym, Pax5, alpha-SM-Aktin, CD3 und CD138 zur spezifischen Anfärbung von Makrophagen, B-Lymphozyten, glatten Muskelzellen, T-Lymphozyten und Plasmazellen (siehe Tabelle 6).

Oberflächenmarker	Zellen
Lysozym	Makrophagen [161]
Pax5	B-Lymphozyten [162]
α-SM-Aktin	Glatte Muskelzellen [163]
CD3	T-Lymphozyten [164]
CD138	Plasmazellen [165]

Tabelle 6: Darstellung der immunhistochemischen Färbungen

3.7.2 Färbung von CD3 positiven Zellen

Folgendes Vorgehen soll als Beispiel einer immunhistochemischen Färbung dienen:

- 1. Objektträger bei 37 °C in den Inkubator (über Nacht)
- 2. In Xylol entparaffinieren (25 Minuten)
- 3. Spülen: in TBS (Tris-buffered saline) bei pH 7,2 7,4

- 4. Immunkomplexbildung
- 5. Vorbehandlung: im Dampfgarer Decloaker belassen (pH 9,5) (45 Minuten)
- 6. In TBS stellen (5 Minuten)
- 7. Primär-Antikörper (monoklonaler Rabbitantikörper) bei einer Verdünnung von 1:200 wirken lassen (20 30 Minuten)
- 8. In TBS stellen (5 Minuten)
- 9. Sekundär-Antikörper (Polylinksystem aus Ziege) wirken lassen (15 Minuten)
- 10. In TBS stellen (5 Minuten)
- 11. 3 x mit 6% H₂O₂ behandeln (je 5 Minuten)
- 12. In TBS stellen (5 Minuten)
- 13. Mit HRP (Horseradish peroxidase) als reagierendes Agens behandeln (15 Minuten)
- 14. In TBS stellen (5 Minuten)
- 15. Mit DAB (Di-amino-Benzidin) färben (8 Minuten)
- 16. Spülen: In Leitungswasser (5 Minuten)
- 17. Gegenfärben mit Hämatoxylin (3 Minuten)
- 18. Unter fließendem Leitungswasser bläuen (3 Minuten)
- 19. Aufsteigende Alkoholreihe:
 - a. Alkohol 96% (2 Minuten)
 - b. Alkohol 100% (1 Minute)
 - c. Alkohol 100% (3 Minuten)
 - d. Xylol I-IV (je 5 Minuten)
- 20. Mit Vitroclut Deckgläsern eindecken

3.8 Material und Ansätze

1. Tiere und Bakterien	
Wistar-Ratten	Charles River
Staphylokokkus epidermidis (Stamm 1457)	ZVK-Isolat, stark biofilmpositiv
Staphylokokkus epideriilidis (Staniili 1437)	(Mack et al. 1992)

Tabelle 7: Übersicht der verwendeten Versuchstiere und Bakterien

2. Antikörper		
Art	Verdünnung	Hersteller
Lysozym	1:2500	Dako
Pax5	1:150	Santa Cruz
α-SM-Aktin	1:200	Dako
CD 3	1:200	Labvision
CD 138	1:100	Biocarta

Tabelle 8: Übersicht der verwendeten Antikörper

3. Weitere Chemikalien	
Art	Hersteller
DAB (3,3 Diaminobevidizidine- Tetrahydrochlorid)	Medac
Mayers Hämatoxylin	Dako
Methanol	Baker

Peroxidase	Otto Fischar GmbH
Xylol	Büfa Chemikalien
HRB	Medac
TBS	Sigma (Selbstherstellung)
Eosin	Chroma (Selbstherstellung)
Weigert (Eisenhämatoxylin A+B)	Waldeck
Säurefuchsin-Ponceau	Waldeck
Phosphormolybdänsäure Orange G	Waldeck
2% Essigsäure	Merck
0,2% Lichtgrün	Fluka
Pararosanilin-HCl	Sigma
Natriumnitrit	Roth
Naphthol-ASD-Chlorazetat- Konzentrat	Sigma
NaCl	Sigma

Tabelle 9: Übersicht der verwendeten Chemikalien

4. Sonstige Materialien	
Art	Hersteller
Silikongelimplantate	SILIMED™, (Brasil, São Paulo,
Silikongelimpiantate	Brazil)
TiLoop Bra®	pfm medical, Köln

3 Material und Methode

Objektträger Super Frost Plus	Menzel, Deutschland
Deckgläser	Menzel, Deutschland
Pipetten	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen	Sarstedt, Nümbrecht
Eppendorf Reaktionsgefäße	Eppendorf, Hamburg

Tabelle 10: Übersicht über weitere verwendete Materialien

5. Geräte und Hilfsmittel	
Bezeichnung	Hersteller
Brutschrank mit 5% CO₂	Heraeus
Ultraschallbad BactoSonic	Bandelin
Kühlzentrifuge 5810R	Eppendorf, Hamburg
Whitley automatic spiral plater	Meintrup dws laborgeräte GmbH
VITEK® MS System	bioMérieux

Tabelle 11: Übersicht der verwendeten Geräte und Hilfsmittel

Zusammensetzung
BioMérieux, 5% Schafblut
30g/l Brain Heart Infusion Agar, 20nM NaCitrat

Tabelle 12: Übersicht der verwendeten Hilfsmittel

3.9 Statistische Auswertung

Alle Präparate wurden von zwei unabhängigen Untersuchern, und zwar von Dr. Bergmann und mir, zu unterschiedlichen Zeitpunkten untersucht. Dabei waren alle Präparate weder mit der Tiernummer, noch mit der Art der Behandlung beschriftet. Wir versahen die Präparate lediglich mit einer 4-stelligen Nummer, die sich aus den letzten vier Ziffern der Produktionsnummer der Implantate zusammensetzte, um eine zuverlässige doppelte Verblindung zu erreichen.

Zur Auswertung der Präparate betrachteten wir mithilfe eines Lichtmikroskops in 20facher Vergrößerung jeweils drei Gesichtsfelder pro Präparat. Dabei wurden die Kapseldicke, die Dicke der synovialen Metaplasiezone (SLM) und der Myofibrillenzone (SMA) an den drei mikroskopisch dicksten Stellen der Kapsel gemessen. Zudem wurden Makrophagen, Riesenzellen, T-Lymphozyten, B-Lymphozyten sowie Plasmazellen, die zuvor mit spezifischen Antikörpern im Rahmen der Immunhistochemie angefärbt worden waren, in den drei verschiedenen Gesichtsfeldern ausgezählt. Diese gaben wir als absolute Zellzahl an. Somit ergaben sich für jeden Untersucher drei Messwerte pro Parameter. Diese wurden jeweils in einem Mittelwert zusammengefasst. In einem weiteren Schritt fassten wir unsere Mittelwerte in einem endgültigen Wert zusammen. Um die Streuung unserer Werte aufzuzeigen, berechneten wir den Rangkorrelationskoeffizienten (Rho). Hierbei zeigte sich eine Korrelation unserer Messwerte (siehe Anhang).

Bei der Auswertung der Blutgefäße wurde folgendes Schema zur Betrachtung herangezogen (siehe Tabelle 13):

-	Keine Ausprägung, im Präparat nicht sichtbar
+	Geringe Ausprägung, vereinzeltes Vorhandensein in jedem Gesichtsfeld
++	Mäßige Ausprägung, mäßiges Vorhandensein in jedem Gesichtsfeld
+++	Starke Ausprägung, starkes Vorhandensein in jedem Gesichtsfeld

Tabelle 13: Übersichtliche Darstellung zur Auswertung der Angiogenese

Da bei den metrischen Werten (Kapseldicke, Dicke der SLM, Myofibrillen und der prozentuale Anteil der Myofibrillen an der Gesamtkapsel) zum Teil Ausreißerwerte vorkamen und die einzelnen Gruppen (1a, 1b, 2a, 2b) verhältnismäßig kleine Kohorten in Bezug auf die Grundgesamtheit darstellten, nutzten wir den Median als Lagemaß sowie den Interquartilsabstand (IQR: X_{75} - X_{25}) als Streuungsmaß. Auf Grund von nicht normalverteilten Werten nutzten wir bei Vergleichen zweier Gruppen mit metrischen Datensätzen den Mann-Whitney-U-Test. Bei Vorliegen eines diskret kodierten Merkmals führten wir bei dem Vergleich zweier Gruppen den Chi-Quadrat (x^2)-Test durch. Für Vergleiche von metrischen zu diskret kodierten Parametern wandten wir den Kruskal-Wallis-Test an. Bei allen Berechnungen wurde das Signifikanzniveau α mit 5 % definiert, so dass ein Test bei p < 0,05 als signifikant bezeichnet wurde. Für die Bestimmung von Zusammenhängen zwischen metrischen Parametern führten wir eine Korrelation nach Pearson durch. Hierbei beschreibt der Korrelationskoeffizient von r < 0,3 eine geringe, 0,3 < r < 0,7 eine mäßige und r > 0,7 eine starke Korrelation zwischen den Werten.

Alle erhobenen Daten wurden zunächst in einer Microsoft Excel® Datei dokumentiert. Im Anschluss erfolgte die statistische Auswertung der Daten mittels SPSS 20.0 (IBM SPSS statistics 20).

4 Ergebnisse

4.1 Versuchsaufbau

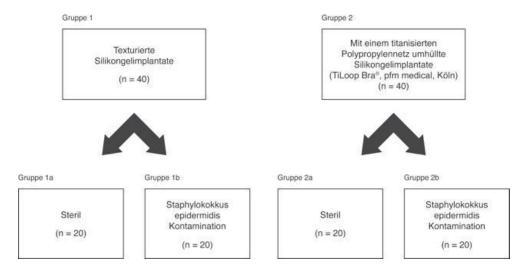


Abbildung 8: Graphisch dargestellter Versuchsaufbau mit verwendetem Tierkollektiv

4.2 Histologische- und immunhistochemische Ergebnisse

4.2.1 Kapselarchitektur

4.2.1.1 Zelllagen

Den in der Literatur beschriebenen dreiteiligen Aufbau von humanen Kapseln konnten wir lediglich bei 45 Präparaten (56,3 %) nachweisen (siehe Abbildung 10). Bei den übrigen Präparaten konnten wir einen zweischichtigen Aufbau erkennen, abhängig von einem Vorhandensein einer synovialen Metaplasiezone. Einen einschichtigen Aufbau konnten wir nicht feststellen. Hinsichtlich der texturierten Oberfläche konnten wir bei 29 von 40 Präparaten (72,5 %) einen dreischichtigen Aufbau der Kapsel erkennen. Im Gegensatz zum Implantattyp konnten wir bezüglich der Kontamination keine signifikanten Unterschiede in der Ausbildung der Zelllagen feststellen (siehe Abbildung 9).

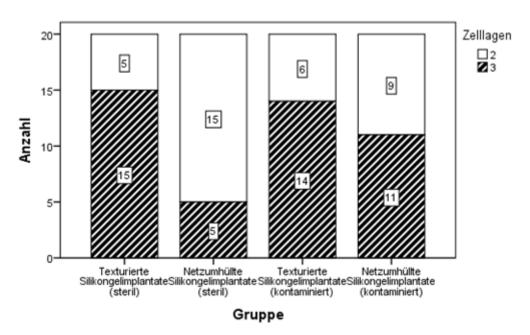


Abbildung 9: Häufigkeit der Zelllagen bei verschiedenen Implantaten inkl. bakterieller Kontamination

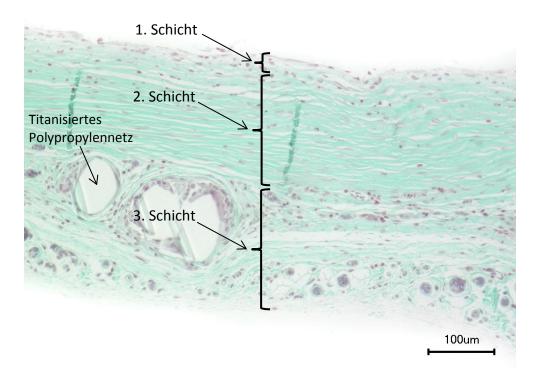


Abbildung 10: Beispiel einer Kapsel eines netzumhüllten Implantats mit einem dreischichtigen Aufbau. Trichrom Färbung nach Masson Goldner, 10fache Vergrößerung

4.2.1.2 Kollagenfasern

Bei Betrachtung der Ausrichtung der Kollagenfaserbündel lassen sich weder bei dem Implantattyp noch bei den kontaminierten Gruppen Unterschiede aufzeigen. Entgegen der erwarteten multidirektionalen Kollagenfaserausrichtung bei texturierter Oberfläche konnten wir weder in der Gruppe 1 (texturierte Silikongelimplantate) noch in der Gruppe 2 (TiLoop Bra®) einen eindeutigen multidirektionalen Verlauf erkennen. In allen Kapseln war der überwiegende Anteil der Kollagenfasern parallel orientiert.

4.2.2 Kapseldicke

Unter Berücksichtigung aller Tiere stellten wir eine mediane Kapseldicke von 356 μ m mit einem Interquartilsabstand (IQR) von 175 μ m fest. Im Vergleich der texturierten Oberfläche zu den TiLoop Bra® Implantaten ergaben sich signifikant unterschiedliche Ergebnisse (407 μ m (191 μ m) zu 313,5 μ m (118 μ m)); (p < 0,001, U-Test).

Auch bei Betrachtung der sterilen Gruppen (Gruppe 1a: 385 μ m (208 μ m) zu Gruppe 2a: 270,50 μ m (83 μ m)) ergaben sich signifikante Unterschiede; (p < 0,001, U-Test). Ähnliche Ergebnisse konnten wir innerhalb der kontaminierten Gruppen erkennen (Gruppe 1b: 456,50 μ m (168 μ m) zu Gruppe 2b: 329,50 μ m (124 μ m); p < 0,001, U-Test).

Keine signifikante Veränderung ließ sich im Vergleich der Untergruppen der Gruppe 1 feststellen; (p < 0.344, U-Test). Im Gegensatz dazu zeigte sich in der Gruppe 2 eine signifikante Zunahme der Kapseldicke nach Kontamination; (p = 0.029, U-Test).

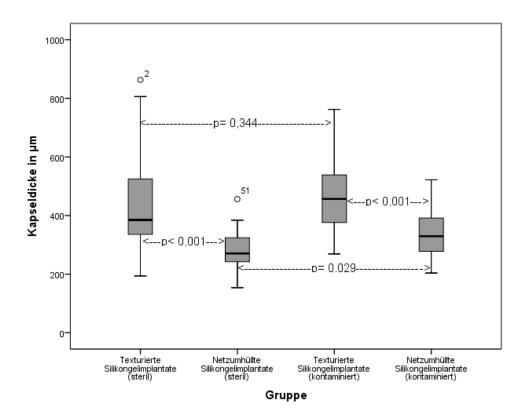


Abbildung 11: Vergleich der Kapseldicke in μ m unter Berücksichtigung des Implantattyps inkl. bakterieller Kontamination. Boxplot Darstellung unter Angabe von Median, Quartilsabstand $Q_{0,75} - Q_{0,25}$ und Verteilsbereich, $^{\circ}$ = Ausreißerwerte

4.2.3 Myofibrillenanteil an der Gesamtkapsel

Zur Beurteilung der Myofibrillen nutzten wir ebenfalls den Median und den Interquartilsabstand als Streuungsmaß. Zur besseren Vergleichbarkeit der Gruppen untereinander bestimmten wir im Vorweg den prozentualen Anteil der Myofibrillen an der Gesamtkapsel. Im Gesamtkollektiv konnten wir bei allen 80 Präparaten einen Myofibrillenanteil bestimmen.

In der Gruppe 1 stellten wir einen Median von 25,5 μ m (14 μ m) fest, in der Gruppe 2 ermittelten wir einen Median von 46 μ m (11 μ m). Dieser Unterschied stellte sich als signifikant heraus (p < 0,001; U-Test). Im Vergleich der sterilen Gruppen (Gruppe 1a: 29,5 μ m (17 μ m) zu Gruppe 2a: 46,00 μ m (17 μ m)) zeigte sich der Anteil an Myofibrillen der Gruppe 2a signifikant größer (p < 0,001, U-Test). Auch bei der Überprüfung der kontaminierten Implantate der Gruppen 1b (20 μ m (14 μ m)) und 2b (45,5 μ m (10 μ m)) zeigte sich ein signifikanter Unterschied (p < 0,001, U-Test).

Im Vergleich der texturierten Implantate untereinander (Gruppe 1a zu Gruppe 1b) konnten wir einen signifikant höheren Anteil an Myofibrillen in der sterilen Gruppe (1a) erkennen (p = 0,003, U-Test). Im Gegensatz dazu hat sich der Myofibrillenanteil innerhalb der netzumhüllten Implantate (Gruppe 2a zu Gruppe 2b) als nicht signifikant herausgestellt (p = 0,369, U-Test).

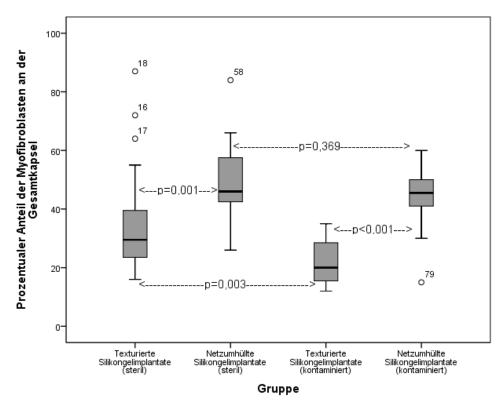


Abbildung 12: Vergleich des prozentualen Anteils der Myofibroblasten an der Gesamtkapsel unter Berücksichtigung des Implantattyps inkl. bakterieller Kontamination. Boxplot Darstellung unter Angabe von Median, Quartilsabstand $Q_{0,75} - Q_{0,25}$ und Verteilsbereich, ° = Ausreißerwerte

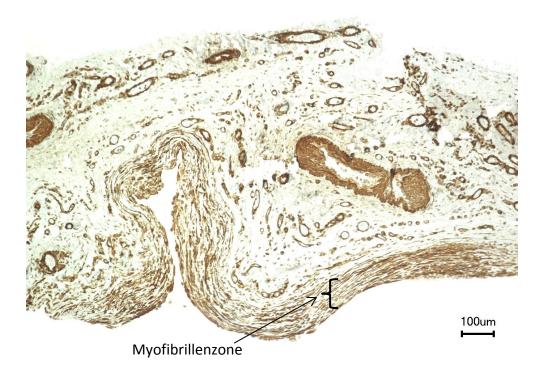


Abbildung 13: Beispiel einer Kapsel eines texturierten Implantats mit Ausprägung einer Myofibroblastenzone im unteren Teil der Kapsel zu erkennen. Immunhistochemische Färbung des α -SM-Aktins, 10fache Vergrößerung

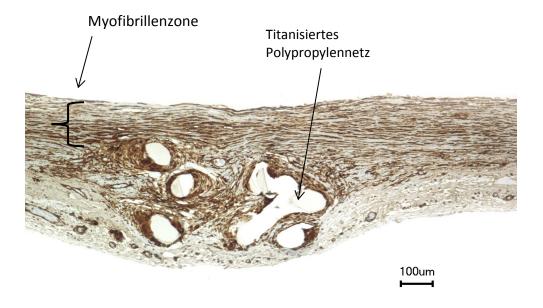


Abbildung 14: Beispiel einer Kapsel eines netzumhüllten Implantats mit Ausprägung einer Myofibroblastenzone auf der linken Seite der Kapsel. Immunhistochemische Färbung des α-SM-Aktins, 10fache Vergrößerung

4.2.4 Synoviale Metaplasiezone

Bei der Analyse der synovialen Metaplasiezone konnten wir im Gesamtkollektiv eine SLM bei 56,2 % (45 Tiere) der Präparate feststellen. Der Median betrug hierbei 10,5 μ m (20 μ m). In der Gruppe 1 fanden wir bei insgesamt 72,5 % (29 Tiere) der Präparate eine SLM mit einem Median von 13 μ m (23 μ m), hingegen nur bei 40 % (16 Tiere) der Gruppe 2 mit einem Median von 20 μ m (18 μ m). Hieraus ergab sich ein signifikanter Unterschied (p < 0,001, U-Test).

Beim Vergleich der sterilen Gruppen untereinander (Gruppe 1a: 17 μ m (27 μ m) zu Gruppe 2a: 0 μ m (14 μ m)) stellten wir signifikant höhere Werte in Kapseln um texturierte Implantate fest (p = 0,005, U-Test). Bei der Überprüfung der kontaminierten Gruppen (Gruppe 1b: 12 μ m (19 μ m) zu Gruppe 2b: 12,5 μ m (18 μ m)) konnten wir keine Unterschiede feststellen (p = 0,659, U-Test).

Bei der Überprüfung einer möglichen Korrelation zwischen der Dicke der SLM und der Kapseldicke aller Implantate stellten wir eine mäßige Korrelation nach Pearson fest (r = 0.337). Einen weiteren Zusammenhang der SLM konnten wir im Kruskal-Wallis-Test erkennen. Hier zeigt sich eine signifikante Zunahme der Dicke der SLM mit einer stärker ausgeprägten Angiogenese (p = 0.002).

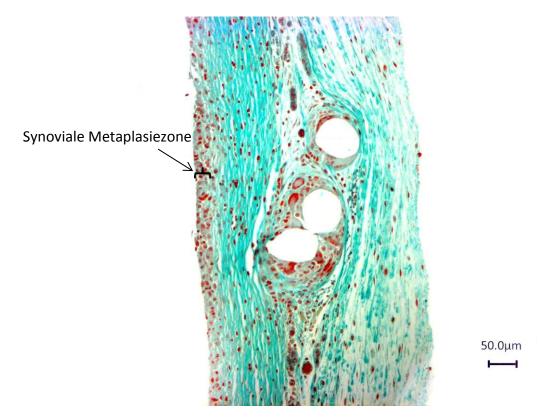


Abbildung 15: Beispiel einer Kapsel mit Ausprägung einer synovialen Metaplasiezone auf der linken Seite der Kapsel. Trichrom Färbung nach Masson Goldner, 10fache Vergrößerung

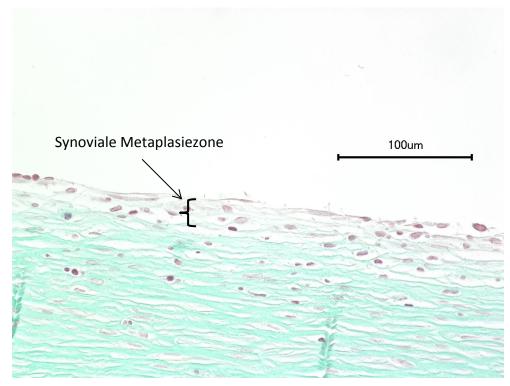


Abbildung 16: Beispiel einer Kapsel eines texturierten Implantats mit Ausprägung einer synovialen Metaplasiezone. Trichrom Färbung nach Masson Goldner, 40fache Vergrößerung

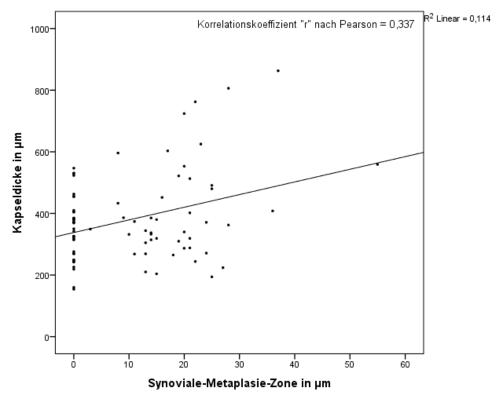


Abbildung 17: Korrelation der Kapseldicke mit der Dicke der SLM, r = 0,337; p = 0,002

4.2.5 Blutgefäße

Bei Betrachtung des Gesamtkollektivs zeigte sich in 30 % (n= 24) eine geringe, in 36,3 % (n= 29) eine mäßige und in 33,8 % (n= 27) eine starke Ausprägung der Angiogenese (siehe Abbildung 18). Bei keinem Präparat konnte als Merkmalsausprägung "keine Ausprägung" nachgewiesen werden.

Unabhängig des Kontaminationsgrades ließ sich bei den Kapseln der texturierten Implantate eine insgesamt stärkere Ausprägung der Blutgefäße nachweisen (siehe Abbildung 19). 62,5 % (25 Tiere) der Kapseln der texturierten Implantate wiesen als Merkmal eine "starke Ausprägung" der Angiogenese auf, hingegen nur 5 % (2 Tiere) der TiLoop Bra® Implantate. Die von uns ermittelten Unterschiede differierten signifikant $(p < 0,001, x^2\text{-Test})$.

Des Weiteren bestand eine mäßige Korrelation zwischen dem Auftreten einer stärkeren Angiogenese mit zunehmender Kapseldicke (r = 0,476). Diese Korrelation stellte sich signifikant dar (p < 0,001).

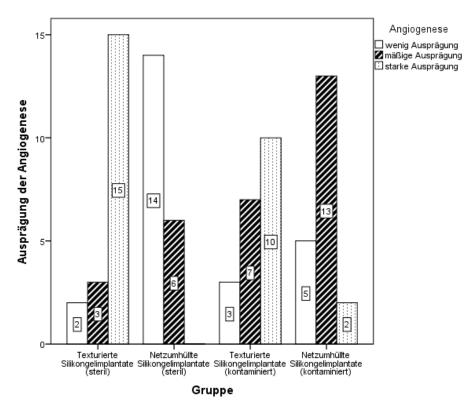


Abbildung 18: Ausprägung der Angiogenese bei verschiedenen Implantaten inkl. bakterieller Kontamination

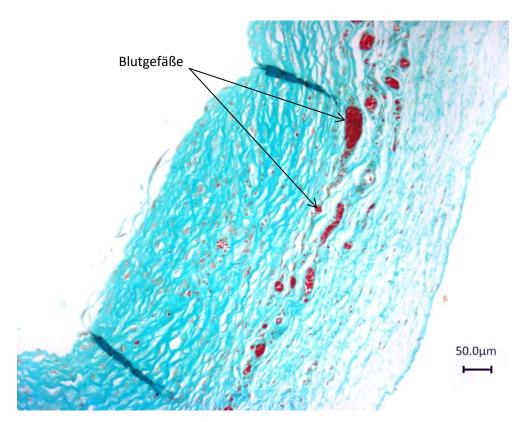


Abbildung 19: Beispiel einer Kapsel eines texturierten Implantats mit mäßiger Ausprägung der Blutgefäße. Trichrom Färbung nach Masson Goldner, 10fache Vergrößerung

4.2.6 Entzündungszellen

Um die entzündliche Reaktion beurteilen zu können, addierten wir die Entzündungszellen der Färbungen CD3 (T-Lymphozyten), CD138 (Plasmazellen), PAX5 (B-Lymphozyten), Lysozym (Makrophagen) und ASD (Granulozyten) pro Gesichtsfeld. Bei Betrachtung der vier Kreisdiagramme (siehe Abbildung 20) wird ersichtlich, dass ein Vorkommen von Makrophagen und T-Lymphozyten deutlich häufiger ist, als das Vorhandensein der weiteren Entzündungszellen. Besonders in der Nähe des Netzes zeigte sich bei den TiLoop Bra® Implantaten ein vermehrtes Vorkommen von Makrophagen.

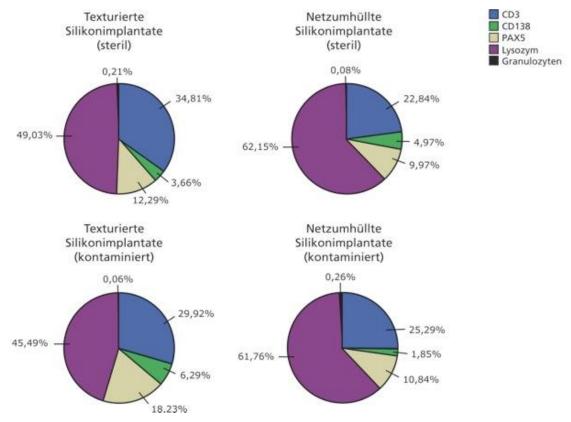


Abbildung 20: Verteilung der Entzündungszellen bei den unterschiedlichen Implantattypen

Im Vergleich der texturierten Implantate mit einem Median von 65 (40) zu den TiLoop Bra® Implantaten mit einem Median von 165 (62) konnten wir ein deutlich vermehrtes Auftreten von Entzündungszellen bei den Präparaten der TiLoop Bra® Gruppe feststellen. Dieser Unterschied stellte sich als signifikant dar (p < 0,001, U-Test). Bei der Analyse der sterilen Gruppen (1a zu 2a) und der kontaminierten Gruppen (1b zu 2b) untereinander

stellten wir ebenfalls signifikante Unterschiede im Vorhandensein von Entzündungszellen fest (p < 0,001, U-Test).

Bei Betrachtung der texturierten Untergruppen untereinander konnten wir in der Gruppe 1a 72 (43) Entzündungszellen pro Gesichtsfeld nachweisen und in der Gruppe 2a 64 (38) Entzündungszellen. Dieser Unterschied war nicht signifikant (p = 0.841). Allerdings konnten wir im Vergleich der TiLoop Bra® Implantate (2a: 130 (62) zu 2b: 185 (39)) untereinander eine signifikant höhere Anzahl an Entzündungszellen pro Gesichtsfeld nach Kontamination aufzeigen (p < 0.001).

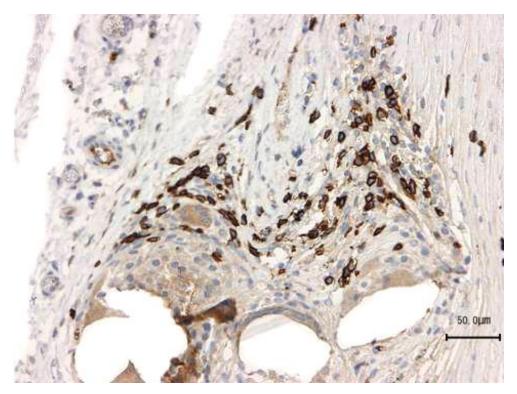


Abbildung 21: Beispiel einer Kapsel eines netzumhüllten Implantats mit starker Ausprägung CD3 positiver Lymphozyten. Immunhistochemische Färbung mit CD3 positiven Antikörpern, 20fache Vergrößerung

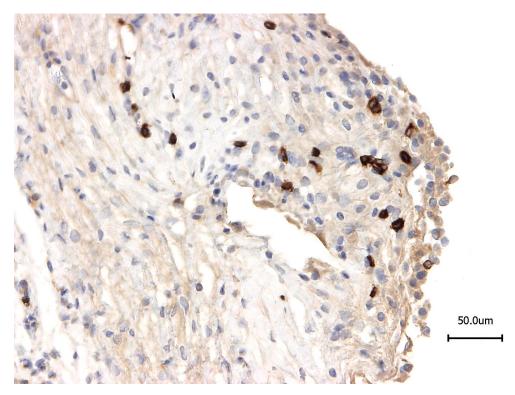


Abbildung 22: Beispiel einer Kapsel eines texturierten Implantats mit mäßiger Ausprägung CD3 positiver Lymphozyten. Immunhistochemische Färbung mit CD3 positiven Antikörpern, 20fache Vergrößerung

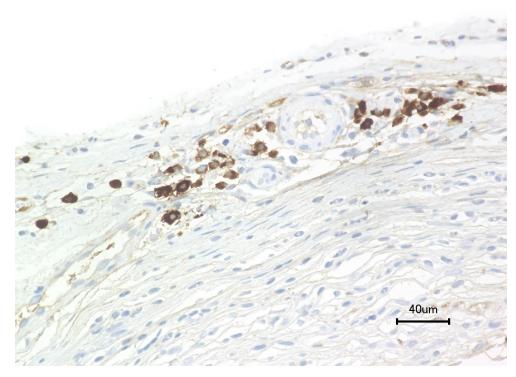


Abbildung 23: Beispiel einer Kapsel eines netzumhüllten Implantats mit starker Ausprägung CD138 positiven Plasmazellen. Immunhistochemische Färbung mit CD138 positiven Antikörpern, 40fache Vergrößerung

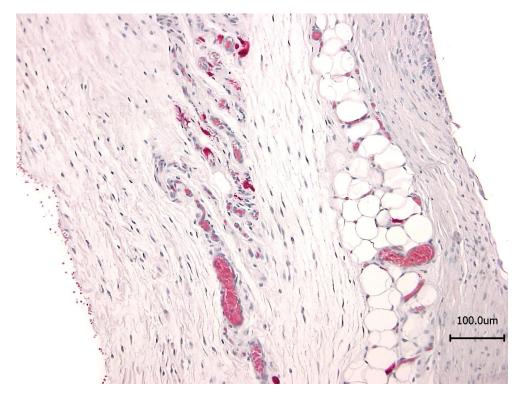


Abbildung 24: Beispiel einer Kapsel eines texturierten Implantats mit einem zweischichtigen Aufbau. Vereinzelt sich Granulozyten erkennbar. Naphthol-AS-D-Chloracetatesterase-Färbung, 10fache Vergrößerung

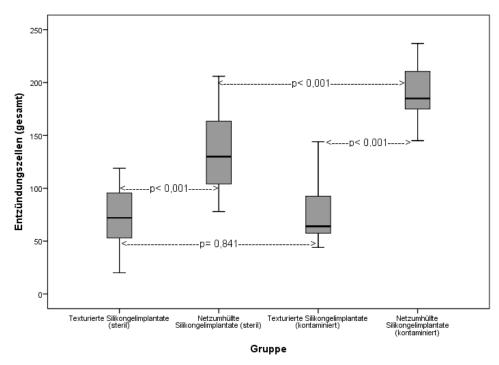


Abbildung 25: Vergleich der Entzündungszellen unter Berücksichtigung der verschiedenen Implantattypen inkl. bakterieller Kontamination. Boxplot Darstellung unter Angabe von Median, Quartilsabstand $Q_{0,75}-Q_{0,25}$ und Verteilsbereich

4.2.7 Mikrobiologie

In Anlehnung an eine Arbeit von Del Pozo et al. [31] unterteilten wir unsere Bewertung der Agarplatten in folgende Gruppen: kein Wachstum, Wachstum von unter 20 CFU/10 ml, Wachstum von 20 - 50 CFU/10 ml, Wachstum von 51 - 100 CFU/ ml und Wachstum über 100 CFU/10 ml.

Unabhängig von dem Implantattyp und des Kontaminationsgrades konnten wir bei 17,5 % (14 von 80 Implantaten) der Agarplatten ein bakterielles Wachstum erkennen. Bei den identifizierten Keimen handelte es sich hauptsächlich um Bakterien der Gattung Staphylokokkus epidermidis, Bacillus cereus, Micrococcus luteus, Streptococcus pneumoniae und Staphylokokkus haemolyticus. Im Hinblick auf die prozentuale Verteilung der einzelnen Untergruppen stellten wir die folgenden Werte fest: Gruppe 1a: 20 % (4 von 20 Implantaten); Gruppe 1b: 15 % (3 von 20 Implantaten); Gruppe 2a: 20 % (4 von 20 Implantaten); Gruppe 2b: 15 % (3 von 20 Implantaten). Allerdings war bei allen dieser Agarplatten lediglich eine Kolonienzahl von unter 20 CFU/10 ml auszumachen. Es handelte sich also am ehesten um eine iatrogene Kontamination der Implantate und wird daher nicht mit in die Auswertung einbezogen.

In der Analyse der BHI-Nährmedien ließ sich bei 5 % der zu untersuchenden Kapseln ein Farbumschlag innerhalb der 14 Tage erkennen. Bei den Gruppen 1b und 2a war keine Trübung erkennbar, in der Gruppe 1a bei einer Probe (5 % \triangleq 1 von 20 Tieren) und in der Gruppe 2b bei drei Proben (15 % \triangleq 3 von 20 Tieren). In der folgenden Analyse der Bakterien identifizierten wir die Keime Enterococcus faecalis, Staphylokokkus aureus und Proteus mirabilis.

Die Abstriche ergaben nur in der Gruppe 2b bei einem Präparat einen positiven Befund (Staphylokokkus epidermidis). Bezogen auf das Gesamtkollektiv entspricht dies 1,25 % der untersuchten Kapseln. Bei keiner der von uns angewendeten Technik konnten wir signifikante Unterschiede in der Bakterienart erkennen.

5 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, die Biokompatibilität unterschiedlicher Silikonprothesen unter spezieller Betrachtung der antiinflammatorischen Wirkung mithilfe eines Tiermodells zu beurteilen. Dabei sollten die folgenden Hypothesen überprüft werden:

- Die Oberflächenbeschaffenheit verschiedener Materialien hat einen Einfluss auf die Kapselarchitektur.
- II. Eine Umhüllung mit titanisierten Polypropylennetzen bewirkt eine Verminderung der Fremdkörperreaktion im Vergleich zu herkömmlichen Implantaten.
- III. Die Ausprägung der Kapselfibrose und die Kapselarchitektur werden durch eine bakterielle Kontamination beeinflusst.

Silikongelimplantate zur Brustrekonstruktion werden seit den 1960er Jahren verwendet und wurden seitdem sukzessive weiterentwickelt [158]. Ziele hierbei waren ein natürliches Aussehen der Brust und eine Reduktion der Komplikationen, besonders die Reduktion der Kapselfibrose [29]. Neben der Oberflächenbeschaffenheit wird eine subklinische Infektion der Implantate als Hauptursache der Kapselfibrose gesehen [166]. Durch Veränderungen der Oberfläche sowie verbesserter Operationstechniken konnte die Inzidenz der Kapselfibrose auf 0,6 - 7,4 % gesenkt werden [30, 167]. Es gibt zahlreiche experimentelle Ansätze, die Silikonoberfläche der Implantate mit Werkstoffen zu verändern, um so die Biokompatibilität der Implantate zu erhöhen. Eine Weiterentwicklung ist der Einsatz von titanisierten Polypropylennetzen (TiLoop Bra*), wodurch laut Hersteller eine verbesserte Biokompatibilität sowie eine antimikrobielle Wirksamkeit erreicht werden.

Hernandez-Richter et al. [148] konnten in ihrem Tiermodell bei der Überprüfung von titanisierten Silikongelimplantaten keine Unterschiede in der antimikrobiellen Wirkung des Titans feststellen. Sie beobachteten eine geringere Einheilungstendenz der titanisierten Implantate. Hierdurch vermuteten sie eine geringere Ausprägung der Kapselfibrose. Bergmann et al. [121] waren die zweite Arbeitsgruppe, die an titanisierten Silikongelimplantaten am Tiermodell forschte. Mit einem neu entwickelten Bewertungssystem (siehe Tabelle 4), konnten sie eine eindeutige Tendenz im Rückgang

der Inzidenz der Kapselfibrose (Grad III und IV) auf Seiten der titanisierten Implantate erkennen. Diese Studien zeigen, dass Titan weiterhin als mögliche Oberflächenbeschaffenheit von Silikongelimplantaten in Betracht kommen sollte.

Ziel unserer Arbeit war es daher, den Einfluss einer neuen Oberflächenbeschaffenheit im Vergleich zu einer etablierten Oberfläche, auf die Kapselarchitektur zu untersuchen. In diesem Zusammenhang wollten wir klären, ob sich das kontrakte Potential der Kapsel durch eine Umhüllung glatter Silikongelimplantate mit einem titanisierten Polypropylennetz, reduzieren lässt und ob die Titanbeschichtung einen geringeren antiinflammatorischen Prozess zur Folge hat. Des Weiteren wollten wir der Frage nachgehen, in wie weit sich eine kontrollierte bakterielle Kontamination auf die Kapselarchitektur auswirkt und welchen Einfluss diese auf eine entstehende Kapselfibrose ausübt.

Zur Untersuchung dieser Fragestellungen wählten wir ein Tiermodell mit Ratten. Angelehnt ist diese Studie an einen ähnlichen, bereits etablierten Versuchsaufbau der gleichen Arbeitsgruppe (AG Dr. Bergmann). Die Vorteile des Tierversuchs liegen in der besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Hierbei tragen die kontrolliert randomisierten Bedingungen, die gleiche Rassenauswahl, ein ähnliches Ausgangsgewicht der Tiere und die Liegezeit der Implantate zur Objektivität bei. Zur Implantation der Miniimplantate wählten wir den Panniculus carnosus der Ratten, da dieser dem Implantationsort der am häufigsten klinisch verwendeten submuskulären Lage beim Menschen am ehesten entspricht. In der Auswertung bezogen wir uns weitestgehend auf die Untersuchung histologischer Parameter [101, 102, 104, 168] sowie mikrobiologischer Untersuchungsmethoden [31, 71, 84, 166] (siehe Material und Methode). Da der eigentliche Prozess der Kapselbildung bei Brustimplantaten laut Literaturhinweisen nach zwei bis drei Wochen abgeschlossen ist [43, 169], entschieden wir uns für eine Liegezeit der Implantate von 60 Tagen, um die Kapselarchitektur zu untersuchen.

Das in unserer Studie verwendete TiLoop Bra® wurde speziell für die Patienten entwickelt, bei denen der Weichteilmantel nicht ausreicht, um das eingesetzte Implantat

komplett zu überdecken. Bislang konnten beim Gebrauch dieser Netze geringere Entzündungsraten im Vergleich zu anderen Netzen beobachtet werden [155, 170].

Um die Hypothese I zu überprüfen, ob verschiedene Oberflächenbeschaffenheiten einen Einfluss auf die Kapselarchitektur haben, ist es entscheidend, den histologischen Aufbau der Kapsel, zu analysieren. Wilflingseder et al. [100] stellten bereits 1974 ein histologisches Bewertungssystem der Kapseln um Silikonimplantate zur Unterscheidung der Kapselgrade vor. Besonderen Schwerpunkt legten sie dabei auf die Kapseldicke und auf intrakapsulär vorkommende Histiozyten. Mit dem Fortschritt der technischen Entwicklung und dem Wissen über die Pathogenese der Kapselentwicklung publizierten Bergmann et al. [101] 2012 einen modifizierten Score zu dem von Wilflingseder. Neben den ursprünglichen Bewertungskriterien analysierten sie die Einwanderung verschiedener Entzündungszellen, besonders das Vorkommen von Lymphozyten.

Bezüglich der Kapseldicke wiesen wir eine signifikant dickere Kapsel bei texturierter Oberfläche nach (p < 0,001). Die Mehrzahl der Präparate dieser Gruppe zeigte den in der Literatur mehrfach beschriebenen dreischichtigen Aufbau der Kapsel (72,5%) [95]. Die Kapseldicke ist insofern interessant, dass sie in der Literatur häufig als entscheidendes Korrelat zur Kapselfibrose gesehen wird [9, 45, 95, 167, 171]. Poeppl et al. wiesen 2007 eine positive Korrelation zwischen dem klinischen Baker-Grad und der auf histologischen Aspekte beruhenden Wilflingseder-Klassifikation nach [6]. Wie oben bereits erwähnt, basiert diese Einteilung unter anderem auf einer zunehmenden Kapseldicke. Diese Annahme spricht dafür, dass wir in unserer Studie auf Grund einer dickeren Kapsel bei Implantaten texturierter Oberflächen ein häufigeres Vorkommen von Kapselfibrose beobachten würden. Eine isolierte Betrachtung scheint unsererseits jedoch nicht angebracht, da die Kapselfibrose eine multifaktorielle Genese aufweist. Besonders makroskopisch imponierte die Kapsel um die texturierten Implantate als zarte, gut vom Implantat zu trennende Schicht (siehe Abbildung 5). Im Gegensatz hierzu, wiesen die Kapseln der TiLoop Bra® eine harte, käfigartige Struktur auf (siehe Abbildung 6). Dadurch erschien das vorher flexible, leichte Netz postoperativ als rigide und feste Struktur. Im Verlauf könnten derartige Veränderungen, wie zum Beispiel Gewebeeinziehungen und Verwachsungen das optische Ergebnis zu einem unnatürlichen Aussehen hin verändern.

Als in den 1980er Jahren die texturierten Silikongelimplantate vorgestellt wurden, erhoffte man sich eine Multidirektionalität des entstehenden Bindegewebes. In der Folge belegten zahlreiche Studien eine Multidirektionalität dieser Kollagenfasern [56, 102, 111, 132]. In diesem Zusammenhang wurde ebenfalls ein Rückgang in der Inzidenz der Kapselfibrose postuliert [127]. In anderen Arbeiten konnten hingegen keine Unterschiede bezüglich der Kapselarchitektur bei verschiedenen Oberflächen beobachtet werden [6]. Unsere Ergebnisse unterstützen damit die histologischen Ergebnisse einer Studie aus dem Jahre 2010, die bei Kapseln texturierter Implantate ebenfalls ein am ehesten parallel ausgerichtetes Bindegewebe beschrieben [172].

Die Neovaskularisation der untersuchten Kapseln zeigte im Hinblick auf die Oberflächenbeschaffenheit ebenfalls Unterschiede. Wir wiesen im Gesamtkollektiv bei jedem Präparat ein Auftreten von Blutgefäßen nach. Bei texturierter Oberfläche zeigte sich ein signifikant häufigeres Vorkommen von stärkerer Vaskularisation gegenüber den mit einem Netz umhüllten Implantaten. Bei beiden Oberflächenbeschaffenheiten konnten wir histologisch eine prominente Schicht von Blutgefäßen zwischen der inneren und der äußeren Kollagenschicht erkennen. Eine weitere abgrenzbare Zone, wie sie von Rubino et al. bei kontrakten Kapseln in Implantatnähe beschrieben wurde, konnten wir nicht erkennen [95]. Es zeigte sich aber bei beiden Oberflächen durchaus ein weiteres, diffuses Vorkommen von kleinen angeschnittenen Blutgefäßen in der gesamten Kapsel, mit einer Tendenz zur stärkeren Ansiedlung in Implantatnähe. Rubino et al. postulieren, dass diese zweite Zone von Blutgefäßen vermehrt bei kontrakten Kapseln vorkommt [95]. Darauf stützend vermuten sie, dass diese Zone der Angiogenese in der Ausbildung der Kapselfibrose eine Schlüsselrolle einnimmt. Neben Rubino et al. existieren weitere Arbeiten, die eine vermehrte Angiogenese bei zunehmender Kapseldicke zeigen konnten [84, 173-175]. Da die oben beschriebene Kapseldicke mit zunehmender Fibrose in Zusammenhang gebracht wird, wird in diesen Arbeiten ebenfalls analog zu Rubino et al. von vermehrter Kapselkontraktur gesprochen. In unserer Arbeit zeigte sich zwischen der Angiogenese und der Kapseldicke ebenfalls eine Korrelation (r = 0,476 nach Pearson, Kruskal-Wallis-Test p < 0,001). Zusammenfassend können wir die Beobachtungen, die in vorangegangenen Studien zur Angiogenese gemacht wurden bestätigen, können jedoch

keinen Unterschied der Vaskularisierung innerhalb der Kapselarchitektur zwischen den verschiedenen Implantattypen ausmachen.

Besonders in den letzten Jahren wird erneut ein Fokus auf die Untersuchung der Myofibroblasten als wichtiger Bestandteil der Kapselarchitektur gelegt. Gabbiani et al. beschrieben bereits 1971 als erste Arbeitsgruppe das Vorhandensein von Myofibroblasten in Verbindung zur Wundkontraktion. Die von ihnen als "modified fibroblasts" beschriebenen Zellen charakterisierten sich durch ca. 60 – 80 Å dicke Mikrofilamente, elektronen-dichte Körperchen mit rauem endoplasmatischen Retikulum, verworrene Zellkerne, Desmosomen sowie eine Basallamina [176]. Myofibroblasten sind allerdings nicht nur in der Phase der Wundkontraktion beteiligt, sondern werden auch vermehrt in der Entstehung hypertropher Narben und bei Organfibrose beobachtet. Hier besonders bei Lungen-, Leber- und Nierenfibrose [177, 178]. Welche Rolle die Myofibroblasten in der Kapselbildung nach Brustrekonstruktion durch Silikonimplantate einnehmen ist bislang nicht einheitlich beschrieben.

Unabhängig des Implantattyps und des Kontaminationsgrades konnten wir bei allen Präparaten eine Myofibrillenzone, bestehend aus Myofibroblasten, nachweisen. Diese Zone stand histologisch in direkter Nachbarschaft zum Implantat. Für eine bessere Vergleichbarkeit dieser Zone unter den Implantattypen bestimmten wir den relativen Anteil der Myofibrillen an der Gesamtkapsel. Hier zeigten sich signifikante Unterschiede, mit einem deutlich dickeren Anteil der Myofibrillen bei den netzumhüllten Implantaten (p < 0,001). Interessant bei unseren Ergebnissen war, dass die Zone der Myofibrillen bei vorangehender Kontamination der Implantate geringer ausfiel, als bei steriler Implantation. Im Gegensatz zu den netzumhüllten Implantaten, war dieser Unterschied bei den texturierten Implantaten signifikant.

Unsere Ergebnisse über ein Vorhandensein der Myofibroblasten mit einem Anteil bis zu 87% an der Gesamtkapsel, lassen sich in den Datenbanken widerfinden [105, 179, 180]. Keine Eindeutigkeit lässt sich in der Literatur über die Lage dieser Zone innerhalb der Kapsel abzeichnen. Übereinstimmend mit unseren Ergebnissen beschreibt die Mehrheit der Studien ein Auftreten der Myofibrillen als direkte Angrenzung zum Silikon der

Implantate [105, 168]. Im Kontrast dazu interpretierten Hwang et al. die Myofibroblasten als äußeren Bestandteil der von ihnen untersuchten Kapseln [104]. Baker et al. nehmen hierbei eine Zwischenposition ein, indem sie postulieren, dass sie eine Myofibrillenzone sowohl als äußere Begrenzung, als auch diffus innerhalb der Kapsel beobachteten [179].

In einer kürzlich publizierten Studie überprüften Schmitz et al. den Einfluss einer Ummantelung von Silikonimplantaten mit einer azellulären dermalen Matrix (ADM) bei Ratten. Die Benutzung einer ADM im Allgemeinen zeigte ebenfalls eine Reduktion der Fremdkörperabwehrreaktion. Diese wird auf natürlichem Wege gewonnen und soll die Regeneration und den Aufbau von Weichteilgewebe unterstützen. Entgegen unseren Ergebnissen zeigte sich in der Kontrollgruppe ohne ADM bei Schmitz et al. eine stärker ausgeprägte Myofibrillenzone. Weiterhin kamen sie zu der Erkenntnis, dass ein Auftreten von Myofibroblasten zeitlich begrenzt ist, da sie nach 12 Wochen Liegezeit ein vermindertes Auftreten von Myofibroblasten in der ADM Gruppe feststellten. Hwang et al. bestätigen diese Aussage und vermuten, dass die Myofibroblasten lediglich in der Phase der Wundkontraktion eine wichtige Rolle spielen und nach mehreren Jahren für die Kapselentwicklung bedeutungslos werden [104, 181]. Eine ebenfalls zeitliche Reduktion dieses Zelltyps konnten Rudolph et al. aufzeigen. Sie konnten nach 15 Monaten bei keiner von ihnen untersuchten Kapsel eine Zone mit vermehrter Ansammlung von Myofibroblasten nachweisen. Da sie nach dieser Zeit weder bei kontrakten noch bei blanden Kapseln Unterschiede bezüglich der Myofibrillen nachweisen konnten, unterstützen sie die Theorie von Schmitz et al. [105]. Widersprüchlich zu einer Bedeutungslosigkeit dieser Zone, ist allerdings eine positive, wenn auch nicht signifikante Korrelation zwischen der durch einen Tensiometer gemessenen Spannung der Kapsel und dem klinisch bestimmten Baker-Grad durch Hwang et al. [104].

Stump et al. hatten einige Jahre zuvor ebenfalls eine geringere Ausprägung von Myofibroblasten bei Präparaten von ADM-ummantelten Silikonimplantaten bei Affen festgestellt. Somit scheint die Auswahl des Ummantelungsmaterials einen entscheidenden Einfluss auf die Ausprägung der Myofibroblasteneinwanderung zu haben. Hierbei könnte das Titan zu einer stärkeren Ausprägung oder Anlockung von diesen Zellen führen. Untersuchungen zu dieser Fragestellung stehen noch aus.

Um einen Einfluss auf die Entwicklung dieser Zone zu bewirken, stellten Baker et al. 1981 ein in vitro Experiment zur Prophylaxe des kontrakten Potentials der Kapsel vor. Sie fanden heraus, dass die Kapseln um explantierte Brustimplantate durch Spasmolytika eine Relaxation erfuhren. Hierdurch vermuteten sie einen Rückgang der Kapselfibrose. Auf Grund der Anwendungsgebiete (Asthma bronchiale, Koliken im Magen-Darm-Trakt, der Harnwege und der Gallenwege) der Spasmolytika stehen sie allerdings nicht als Möglichkeit zur Prophylaxe der Kapselfibrose zur Verfügung [179].

Auf Grund der begrenzten Liegezeit von acht Wochen in unserer Studie, können wir weder bestätigen noch widerlegen, ob das Vorhandensein von Myofibroblasten zeitlich begrenzt ist und welcher Einfluss nach mehreren Monaten von ihnen ausgeht. In einer überprüfenden Studie mit einer längeren Liegezeit der Implantate müsste erneut nach einer Veränderung der Myofibrillenzone geschaut werden. Nach dem jetzigen Stand der Forschung bleibt die signifikant dickere Schicht von Myofibroblasten bei den TiLoop Bra® umhüllten Implantaten jedoch weiterhin ein Hinweis für eine vermehrte Kontraktion in der Anfangsphase der Kapselausbildung.

Paradoxerweise konnten wir bei unseren Ergebnissen nach Kontamination eine dünnere Zone der Myofibrillen beobachten. Dies lässt sich am ehesten mit einer vermehrten Infiltration von Entzündungszellen in der Kapsel erklären. Diese können die Kapsel auflockern und so in der initialen Phase die Ausbildung paralleler Myofibrillen verhindern. Nach Abklingen der entzündlichen Akutreaktion könnte sich dieses Verhältnis erneut verändern. Dies kann jedoch an Hand unserer Daten nicht belegt werden (siehe Modell von Nemecek et al. 1993, unten). Insgesamt sind unsere Ergebnisse also im Einklang mit den bisherigen Literaturhinweisen bezüglich der Myofibrillen innerhalb der Kapsel. Das Hauptaugenmerk sollte weiterhin auf die Pathogenese der Entzündung nach Brustrekonstruktion gelegt werden.

Die Fremdkörperreaktion nach Brustrekonstruktion mit Silikongelimplantaten wird in der Literatur häufig diskutiert [182]. Es konnte gezeigt werden, dass eine bakterielle subklinische Infektion der Implantate, besonders durch den Keim Staphylokokkus epidermidis als ein möglicher Ausgangspunkt für eine stärkere Fibrosierung

verantwortlich ist [30, 83]. Die Möglichkeit des Bakteriums einen Biofilm zu produzieren, mit anschließender Abkapselung des Keims, erschwert es neue Therapiestrategien zu entwickeln [183]. Pajkos et al. nehmen an, dass der produzierte Biofilm einen Generator für einen chronischen Entzündungsreiz darstellt [47]. Andere Autoren postulieren, dass es in Gegenwart des Staphylokokkus epidermidis zu einer Beschleunigung des Kapselaufbaus mit verstärkter Kapselfibrose kommt [60, 61]. Durch neue Oberflächen der Silikonimplantate konnte bislang kein Weg gefunden werden, wodurch es zu einer geringeren inflammatorischen Reaktion des Organismus kommt.

Bei Betrachtung unserer Ergebnisse zeigte sich, dass es bei den netzumhüllten Implantaten zu einer signifikant stärkeren Zellinfiltration der Kapsel kommt. Hypothese II lässt sich somit nicht bestätigen. Besonders ausgeprägt waren die Unterschiede bezüglich der Ansammlung von Makrophagen und Riesenzellen. Dies implementiert eine stärkere phagozytotische Reaktion auf das Polypropylennetz. Vermutlich kommt es durch die Oberflächenvergrößerung des Fremdkörpermaterials zu einer überschießenden Entzündungsreaktion des Körpers. Unsere Ergebnisse spiegeln besonders deutlich den normalen Ablauf einer Entzündungsreaktion, der von Nemecek et al. 1993 beschrieben wurde, wider: Zu Beginn kommt es zu einer zellulären Infiltration von Leukozyten, insbesondere der neutrophilen Granulozyten. Innerhalb der ersten drei Tage wird der Großteil der neutrophilen Granulozyten durch Plasmazellen und Makrophagen ersetzt. In den darauffolgenden Tagen kommt es zu einer Abnahme dieser Entzündungszellen. Durch die Invasion von Makrophagen resultiert ein vermehrtes Einwandern von Fibroblasten, die sich wiederum in Fibrozyten und Myofibroblasten umwandeln. Dadurch kommt es zu einer stärkeren Ausbildung von Myofibrillen, welche weiter oben bereits beschrieben worden sind. Zum anderen kommt es zu einer verstärkten Kollagenbildung [43]. Ein stärker ausgeprägtes Vorkommen von Kollagen konnten wir bei den netzumhüllten Implantaten im Vergleich zu den texturierten Implantaten nicht erkennen. Es wurde beschrieben, dass die Kollagenproduktion über die Zeit nicht weiter zunimmt, gegebenenfalls sogar abnimmt. Daher ist nicht davon auszugehen, dass es bei längerer Liegezeit der TiLoop Bra® Implantate zu einer verstärkten Kollagenproduktion im Verlauf kommt [111, 184].

Den bisher stattgefundenen Untersuchungen über titanisierte wenigen, Polypropylennetze mangelt es an wichtigen Kontrollgruppen. Scheidbach et al. [149] wiesen deutliche Vorteile bei dem Ti-Mesh-Netz im Vergleich zu anderen Netzen im Verschluss von Bruchpforten bei Leistenhernien nach. Es imponierte durch die geringste Entzündungsrate nach 90 Tagen, einer verminderten Kollagen-I-Synthese sowie der erhaltenen Flexibilität des eingeheilten Netzes. Ob dieses tatsächlich einen antiinflammatorischen Effekt besitzt, lässt sich dadurch allerdings nicht überprüfen. Aus diesem Grund lässt sich dieses Ergebnis schlecht mit unseren Ergebnissen der Entzündungszellen vergleichen. Fest steht aber, dass Ratten einen anderen Aufbau von Kollagenen haben und Kollagen Typ I eine untergeordnete Rolle spielt. Dietrich et al. [155] beschrieben ähnliche Ergebnisse zu der Arbeitsgruppe von Scheidbach. Histologisch erkannten sie lediglich eine milde Infiltration von Entzündungszellen. Allerdings fehlen hierbei auch die entscheidenden Kontrollen, die eine überschießende Entzündungsreaktion bei Implantation von Silikongelimplantaten ohne Netzeinlage anzeigen würden.

Bei genauerer isolierter Betrachtung der T-Lymphozyten stellten wir in Konkordanz zur Literatur ähnliche Ergebnisse fest. Ähnlich wie bei den Makrophagen beobachteten wir auffallend häufig ein Vorkommen von T-Lymphozyten in direkter Nachbarschaft zum Polypropylennetz (siehe Abbildung 21). Bei den texturierten Implantaten waren sie zwar zu erkennen, doch kamen sie eher vereinzelt oder diffus in der Kapsel verteilt vor (siehe Abbildung 22). Das Vorkommen der T-Lymphozyten steht im Mittelpunkt als ein Erklärungsansatz der chronischen Entzündung nach Implantation von Silikonimplantaten. Die Interaktion zwischen dem Silikon und dem Gewebe mit einer dadurch bedingten gesteigerten Proliferation und Einwanderung von mononukleären Zellen, die wiederum zu der Ausbildung von T-Lymphozyten führen, wurde in der Literatur schon häufiger beschrieben [185-188]. Wolfram et al. fanden kürzlich heraus, dass die spezifische lokale Immunantwort durch aktivierte TH1- und TH17-Zellen getriggert ist. Weiterhin zeigten sie einen durch intrakapsulär vorkommende CD4-positive T-Lymphozyten bedingten Anstieg der Interleukine 6, 8 und 17 sowie des TGF-beta und Interferon-gamma [189]. Ein paar Jahre zuvor hatten Tavazzani et al. in einem in vitro Experiment nachweisen können, dass

es durch die Interaktion von Silikon und Makrophagen zu einer Aktivierung des proinflammatorischen Zytokins IL-1 kommt. IL-1 und auch oben erwähnte Faktoren (IL 6, 8, 17 und TGF-beta) sind bekannt für ihre Rolle in der Proliferation, Proteinsynthese sowie der Fibroblastendifferenzierung. Man geht davon aus, dass es durch die Induktion dieser Faktoren zu einer gesteigerten Kollagenproduktion kommt und somit den Auslöser für die Kapselfibrose darstellen könnte [189, 190]. Schon in älteren Arbeiten zeigte sich neben der IL-1 Produktion eine IL-6 Aktivierung, was einen synergistischen Effekt in der inflammatorischen Antwort auf Fremdkörper darstellt [32, 191]. Neben der verstärkten Einwanderung von Lymphozyten stellten wir im Vergleich unserer Untersuchungsgruppen ebenfalls ein deutlich vermehrtes Vorkommen von Makrophagen fest. Diese waren besonders in der Nähe des Polypropylennetzes lokalisiert. Über das physiologische Vorkommen bei einer inflammatorischen Reaktion des Organismus hinaus, könnte dies ein Hinweis auf eine stärker ausgeprägte Fremdkörperreaktion bei den TiLoop Bra® Implantaten sein. Im Gebrauch von Biomaterialien wie beispielsweise das Polypropylen, lassen sich unsere Ergebnisse bezüglich einer vermehrten Makrophageninvasion in den Datenbanken wiederfinden [192-194]. Die Studien über die Einwanderung von T-Lymphozyten und Makrophagen sind ein Hinweis darauf, dass eine entstehende Fibrose maßgeblich durch die Produktion von profibrotischen- und proinflammatorischen Zytokinen als Konsequenz der vorhandenen CD4-positiven Zellen bedingt ist. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die hohe Anzahl von T-Lymphozyten auf eine chronische Entzündungsreaktion hinweist. Kritisch anzumerken an unserem Studiendesign ist jedoch, dass wir keine definitive Aussage über die Art der Entzündungsreaktion machen können. Hierfür wäre ein kinetisches Versuchsprotokoll mit Untersuchungen des Gewebes zu verschieden Zeitpunkten von Nöten. Die Idee des Gebrauchs von titanisierten Polypropylennetzen als Ummantelung von Silikonimplantaten zur Verminderung der inflammatorischen Antwort können wir also nach Analyse unserer Ergebnisse vorerst nicht empfehlen. Nach 60 Tagen zeigten die Kapseln eine insgesamt stärkere Fremdkörperreaktion als die Kapseln der Implantate ohne Netzeinlage.

Ein weiterer Parameter, welcher bislang zwar keinen eindeutigen Einfluss auf die Entwicklung der Kapselfibrose hat, dennoch immer wieder mit ihr in Verbindung gebracht

wird, ist die SLM. Sie beschreibt eine, dem Implantat anliegende Schicht, bestehend aus hochprismatischen Zellen mit basalen, pallisadenförmig angeordneten Zellkernen. Inzwischen wurde gezeigt, dass die Zellen sowohl an der Phagozytose beteiligt sind als auch eine sekretorische Funktion besitzen. Durch die Sezernierung von u. a. Proteoglykanen und Keratin kommt es zu der Ausbildung einer Gleitschicht zwischen der Kapsel und dem Implantat [107, 110]. Bedingt durch die permanente mechanische Scherkrafteinwirkung gehen einige Autoren davon aus, dass diese Gleitschicht einen protektiven Schutz im Prozess der Fibrosierung darstellt [107, 110, 195].

Aus der Gesamtzahl der Studien lässt sich eine Inzidenz der SLM von 40 % - 87 % ermitteln [102, 106, 107]. Übereinstimmend zu diesen Werten, wiesen wir im Gesamtkollektiv eine SLM bei 45 Präparaten (56,2 %) nach. Bei den Kapseln texturierter Oberflächen beobachteten wir im Vergleich zu den netzumhüllten Implantaten ein signifikant häufigeres Auftreten der SLM. Ein häufigeres Vorkommen der SLM bei texturierten Implantaten war bereits in vorangegangen Arbeiten gezeigt worden [102, 107]. Die Arbeitsgruppe um Bergmann et al. waren die ersten, die in einem standardisierten Tierversuch zeigen konnten, dass die Oberflächenbeschichtung entscheidend an der Ausprägung der synovialen Metaplasiezone beteiligt ist. Sie konnten bei glatten Silikonexpandern gegenüber titanisierten Implantaten eine stärker ausgeprägte SLM nachweisen [101]. Da dieser Unterschied in unserem Versuch zwar deutlich im Vergleich der beiden sterilen Gruppen zu erkennen war, bei den Kapseln nach Kontamination allerdings nicht mehr signifikant erschien, können wir dies nur bedingt bestätigen. Das insgesamt häufigere Vorkommen einer SLM nach Kontamination könnte vielmehr ein Indiz dafür sein, dass sich diese Zone bei einer durch Bakterien bedingten subklinischen Infektion stärker ausprägt als ohne. Eine bestehende Korrelation zwischen einer stärkeren Entzündungsreaktion und dem Vorkommen einer SLM wurde bereits von Hameed et al. [108] und Bergmann et al. [121] beschrieben. Beide deuten auf eine mögliche Beschleunigung der Fibrosierung hin. Dies wiederum untermauert den Standpunkt von Siggelkow et al, die in einer histologischen Untersuchung eine zunehmende Fibrosierung bei vorhandener SLM nachweisen konnten [102]. Sie vermuten, dass durch die anfängliche proliferative Zellveränderung unter dem Einfluss des mechanischen Stresses

die SLM in ein fibrotisches narbenähnliches Endstadium übergeht und den Ausgangspunkt der Fibrose darstellt.

In einer Regressionsanalyse konnten Ko et al. nach Herausrechnen des Zeitfaktors keine Unterschiede bezüglich der Oberfläche nachweisen. Ihrer Meinung nach ist die Liegezeit der Implantate zur Beurteilung entscheidend, da sie in ihrem Versuch eine stetige Abnahme der SLM über die Zeit beobachteten [106]. Aus diesen Ergebnissen schlossen sie, dass die klinische Bedeutsamkeit dieser Zone von untergeordneter Bedeutung ist und vermutlich lediglich eine histologische Transformationszone im Prozess der Kapselausbildung darstellt.

Hinsichtlich der Ausprägung der Kapselarchitektur und der Entzündungsreaktion bei Implantation von Silikonimplantaten unterschiedlicher Oberflächen wäre es interessant gewesen, eine weitere Gruppe von Tieren mit einer längeren Liegezeit der Implantate zu etablieren. Dadurch hätten wir den häufig diskutierten dynamischen Prozess der Kapselentwicklung besser darstellen können. Ob es sich bei der signifikant höheren Ansammlung von Entzündungszellen in der Gruppe mit den titanisierten Implantaten lediglich um eine zeitweilige Erhöhung der Zellen mit dem Bild einer stärkeren Fremdkörperreaktion handelt oder es zu einem langfristigen Anstieg mit der möglichen Folge einer Kapselfibrose kommt, lässt sich somit nur unzureichend beantworten. Im Fehlen der Beurteilbarkeit der zeitlichen Komponente liegt sicherlich ein Schwachpunkt dieser Arbeit. Es existieren Studien, die durch den dynamischen Prozess der Kapselentwicklung eine Beurteilung der Kapseln erst nach fünf Jahren Liegezeit vorschlagen [111]. Allerdings lässt diese Annahme die Spekulation zu, dass die Ausrichtung der Kollagenfasern, ein Vorkommen von Myofibroblasten und die Ausbildung der Angiogenese von untergeordneter Bedeutung sind, da diese Parameter speziell in der Anfangszeit prägend für die spätere Kapselarchitektur sind. Eine im New England Journal of Medicine publizierte Studie zeigte, dass sich die lokalen Komplikationen nach Brustrekonstruktion infolge eines Silikonimplantats zu 50% innerhalb des ersten Jahres und zu 75% innerhalb der ersten drei Jahre ausbilden [32]. Dies deutet darauf hin, dass die Ursachen der Pathogenese der Kapselfibrose eher in den Anfangsstadien der Kapselentwicklung zu suchen sind und nicht erst nach fünf Jahren Liegezeit.

Neben den Parametern der Kapselarchitektur, die in Verbindung mit einer stärkeren Kapselfibrose gebracht werden, bleibt die bakterielle Kontamination als Hauptursache weiterhin im Fokus aller Untersuchungen. In der Literatur wird häufig von einer subklinischen Infektion der Kapsel gesprochen anstatt von einer bakteriellen Besiedlung im Allgemeinen. Dem Keim Staphylokokkus epidermidis ist es durch seine Pathogenitätsfaktoren möglich, einen Biofilm auszubilden. Dieser Biofilm erschwert es dem Organismus, den Keim zu eliminieren. Für immunkompetente Menschen stellt er normalerweise keine Pathogenität dar. Kommt es allerdings zur Implantation von Fremdkörpermaterial oder sind die Patienten immunsupprimiert, bildet das Bakterium dieses Netzwerk spezieller Proteine aus, welches die Fähigkeit des Organismus zur Abwehr einschränkt. In der Regel wird der Biofilm bei Fremdkörper-assoziierten Infektionen beschrieben [183]. Die subklinische Infektion mit der Ausbildung eines Biofilms wurde erstmals bei ZVK-assoziierten Infektionen sowie bei Hüft- und Knieprothesen beobachtet [62, 64, 157]. Betrachtet man die absoluten Zahlen der bakteriellen Besiedlung von kontrakten Kapseln, wird deutlich, dass der Staphylokokkus epidermidis auch bei Silikonprothesen der am häufigsten isolierte Keim ist [31, 67, 73].

Autoren	Jahr	Tier- modell	Bakterien + Konzentration	Euthana- sie	Ergebnis
Shah et al. [61]	1981	Hase (n=16)	Staph. epidermidis (1x10 ⁷)		Kapseln bei kontaminierten Implantaten waren dicker, härter, fibröser, Baker III/IV vs. Baker I/II (Kontrolle)
Kossovski et al. [60]	1984	Schwein	Staph. aureus		Beschleunigte Kapselbildung bei vorliegender Infektion
Hernandez- Richter et al. [148]	2007	Maus (n=24)	2x10 ⁷ /ml Staph. aureus (100μl)	Nach 14 Tagen	Keine Vorteile einer Titanbeschichtung bezüglich der Entzündungsrate, keine Aussage zur Kapselarchitektur
Mendes et al. [158]	2008	Ratte (n=35)	Staph. epidermidis (10 Bakterien/ml)	Nach 30 Tagen	Keine histologischen Unterschiede bei Kapseln unter Instillation von Bakterien im Vergleich zu steril operierten Tieren
Tamboto et al. [71]	2010	Schwein (n=6)	Staph. epidermidis	Nach 13 Wochen	Positive Korrelation zwischen subklinischer Infektion, Biofilmbildung und Kapselfibrose
Marques et al. [84]	2011	Hase (n=31)	2,5x10 ⁷ /ml Staph. epidermidis (100 μl)	Nach 4 Wochen	Dickere Kapsel nach Bakterien-Instillation, polymorphe Entzündung bei kontaminierter Gruppe

Tabelle 14: Übersicht von ausgewählten Tiermodellen zur Beurteilung der Kapselarchitektur nach perioperativer Bakterien-Instillation

Da eine iatrogene perioperative Kontamination bei Menschen ethisch nicht vertreten werden kann, wurden in den letzten Jahren vermehrt Tiermodelle vorgestellt, die sich mit der kontrollierten subklinischen Infektion nach Brustrekonstruktion beschäftigten (siehe Tabelle 14).

In Anlehnung an diese Arbeiten der bisher verwendeten Konzentrationen von Bakterien, entschieden wir uns für eine Bakterienzahl von 3,2 x 10^6 CFU pro 100 μ l. Zur Analyse der bakteriellen Kontamination verwendeten wir ein niederfrequentes Ultraschallbad, um einen möglichen Biofilm sowie die Bakterien schonend vom Implantat zu trennen und im Anschluss zu untersuchen [31].

Auffallend bei der Analyse der Kapselparameter bei Kontamination war eine signifikant dickere Kapsel innerhalb der Gruppe der Implantate mit dem TiLoop Bra® als Umhüllung. Bei texturierter Oberfläche stellte sich zwar eine Tendenz zu einer dickeren Kapsel dar, doch war dieser Unterschied nicht signifikant (p = 0,344). Da bisherige Literaturhinweise eine zunehmende Kapselfibrose bei dickerer Kapselausprägung aufzeigen konnten, lässt sich durch unsere Ergebnisse vermuten, dass eine bakterielle Kontamination tatsächlich ein dickeres Kollagennetz zur Folge hat. In der Untersuchung der Entzündungszellen, beobachteten wir bei den TiLoop Bra® Implantaten ein deutlich vermehrtes intrakapsuläres Vorkommen von Entzündungszellen nach Kontamination. Dieser Unterschied war interessanterweise bei der texturierten Oberfläche nur bedingt ersichtlich. Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass eine bakterielle Besiedlung besonders bei den titanisierten Polypropylennetzen eine größere Rolle spielt. Der Gebrauch dieser Netze führt dementsprechend nach 60 Tagen nicht zu einer, wie vom Hersteller versprochener antiinflammatorischen Antwort des Organismus. Ganz im Gegenteil würde es eher für eine beschleunigte Entzündungsreaktion sprechen. Somit lässt sich Hypothese bestätigen, dass eine bakterielle Kontamination eine unterschiedliche Kapselarchitektur zur Folge hat. Unabhängig von der Oberflächenbeschaffenheit unterstützt die Mehrzahl der Arbeiten eine positive Korrelation zwischen dem Vorliegen einer bakteriellen Kontamination und dem Auftreten von höhergradigen Kapselfibrosen [31, 47, 57, 72, 82, 83]. Hierbei muss beachtet werden, dass der Endpunkt dieser humanen Studien symptomatische Patienten mit der Indikation zur Explantation der Implantate, darstellte. Es lässt sich somit nur spekulieren, ob wir im Falle einer Entzündungsreaktion der Ratten ebenfalls eine stärkere Kontamination beobachtet hätten. Zwar konnten einige Studien mit Tiermodellen (siehe Tabelle 14) eine Korrelation zwischen Bakterieninstillation und Kapselfibrose nachweisen [60, 61], doch liegt hierbei ein Fehler in der Auswertung der Ergebnisse vor. Das Problem in diesen Arbeiten liegt darin, dass der verwendete Baker-Grad zur Beschreibung der Kapselfibrose auf ein subjektives Schmerzempfinden der Implantatträger beruht und daher bei Tieren nicht angewendet werden kann. Analog zu unseren Erkenntnissen konnten einige Autoren von Tiermodellen zwar positive Korrelationen zwischen der Bakterien-Instillation und Kapselparametern nachweisen, welche in Zusammenhang mit einer stärkeren Kapselfibrose stehen, doch konnten hier keine definitiven Aussagen getroffen werden [84, 148, 158]. Des Weiteren, sind diese Studien durch kürzere Liegezeiten und kleinere Versuchsgruppen charakterisiert. Außerdem werden zum Teil mehrere Implantate pro Tier verwendet, bei denen eine Beeinflussung der Implantate untereinander nicht ausgeschlossen werden kann.

Bei Betrachtung der mikrobiologischen Untersuchungen zeigten sich interessanterweise keine deutlichen Unterschiede zwischen unseren Untersuchungsgruppen. In Anlehnung an eine Studie aus dem Jahre 2009 [31], entschieden wir uns bei einer nachgewiesenen bakteriellen Kolonisation von unter 20 CFU/10 ml im Ultraschallbad dies als Kontamination zu werten. Dementsprechend konnten wir bei 17,5 % der untersuchten Implantate ein bakterielles Wachstum nachweisen. Allerdings zeigte sich auf den untersuchten Agarplatten ein Wachstum zwischen 4-16 CFU/10 ml. Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen waren hierbei nicht zu erkennen. In der Analyse des BHI-Mediums zeigte sich im Gesamtkollektiv eine Trübung der Proben bei 5 % der Kapseln. In der kontaminierten Gruppe der TiLoop Bra® Implantate lag dieser Anteil isoliert betrachtet bei 15 %. Ob es sich bei diesen Proben um ein tatsächliches bakterielles Wachstum handelt oder durch eine Kontamination begründet ist, lässt sich durch diese Untersuchungsmethode nicht eindeutig beweisen. Unterstützend zum Bestehen einer Kontamination, wiesen wir nur in dieser Gruppe einen positiven Abstrich mit dem Keim Staphylokokkus epidermidis nach.

In neueren Arbeiten wird die Inzidenz von bakterieller Kontamination bei kontrakten Kapseln mit bis zu 56 % beschrieben [47, 72, 83, 90, 196]. Die primär neben dem Staphylokokkus epidermidis nachgewiesenen Keime kontrakter Kapseln waren Propionibakterium acnes, Staphylokokkus aureus, Corynebakterien und Enterokokken

[83, 88, 166]. Wir stellten durch unsere Untersuchungstechniken keine Unterschiede in der Bakterienart fest, was vermutlich an der geringen Zahl von positiven bakteriellen Nachweisen beruht. Hierbei muss kritisch angemerkt werden, dass die von uns gewählte Bakterienkonzentration vermutlich nicht ausreichte, um die Unterschiede im Hinblick auf die bakterielle Kontamination genauer zu untersuchen.

Zusammenfassend zeigt diese Studie, dass verschiedene Oberflächenbeschichtungen einen entscheidenden Einfluss auf die Kapselarchitektur haben. Somit konnte unsere Hypothese I bestätigt werden. Besonders auffällig war der signifikant dickere Anteil an parallelen Myofibrillen an der Gesamtkapsel bei den glatten, Netz-umhüllten Implantaten. Durch die parallele, konzentrische Ausrichtung dieser Fasern wird vermutlich das kontrakte Potential in der Anfangszeit der Kapsel sich zusammenzuziehen erhöht und könnte in der Folge eine Kapselfibrose begünstigen. Die makroskopisch zwar signifikant dünnere Kapsel um TiLoop Bra® umhüllte Silikonimplantate imponierte zusätzlich mit einer harten käfigartigen Struktur, die besonders in der Nähe des Netzes durch einen hohen Anteil von zellulärer Infiltration charakterisiert war. Auffällig hierbei war die verstärkte zelluläre Antwort auf die Implantate und das Netz bei bakterieller Kontamination, welche gegenüber den sterilen Implantaten signifikant größer ausfiel. Im Gegensatz dazu, konnten wir bei den texturierten Silikongelimplantaten unter bakterieller Kontamination keinen Unterschied bezüglich der zellulären Reaktion feststellen. Dies könnte dafür sprechen, dass das titanisierte Polypropylennetz einen zusätzlichen Faktor für eine stärker ausgeprägte Fremdkörperreaktion darstellt. Auf Grund dieser verstärkten inflammatorischen Antwort lässt sich Hypothese II nicht bestätigen und wir können zu diesem Zeitpunkt, unsere Art das Netz als Mantel um die Implantate zu legen, nicht als Weg zur Erhöhung der Biokompatibilität empfehlen. Die antimikrobielle Wirksamkeit des Titans konnten wir leider nur unzulänglich bewerten, da vermutlich die von uns gewählte bakterielle Kontamination zu gering war. Es sollte daher in einem ähnlichen Versuchsaufbau mit einer höher konzentrierten Bakteriensuspension auf diesem Gebiet weiter geforscht werden. Da wir einige Aspekte, welche in der Literatur mit einer bakteriellen Kontamination einhergehen (Myofibrillenanteil, Kapseldicke, Entzündungszellinfiltrate) in unterschiedlichen Ausprägungen beobachten konnten,

unterstützt dies die Hypothese III, dass eine bakterielle Kontamination maßgeblich die Verträglichkeit der Implantate beeinflusst. Weiterhin wäre es wichtig, den Zeitfaktor in folgenden Studien mit zu beurteilen, da die Entwicklung der Kapsel als dynamischer Prozess beschrieben wird [111]. Besonders der Anteil an glatten Myofibrillen wird über die Zeit als abnehmend beschrieben [197], was wir mit unserem Studiendesign nicht nachweisen konnten. Wir vermuten jedoch, dass die Ausprägung dieser Zellen entscheidend an der Kontraktur der Kapsel beteiligt sein könnte.

6 Zusammenfassung

Einleitung: Kapselfibrose ist eine häufig beobachtete Komplikation nach Implantation von Silikonimplantaten und ist mitunter auf eine subklinische Staphylokokkeninfektion zurückzuführen. Einen vielversprechenden Ansatz zur Reduktion der Kapselfibrose bieten titanisierte Polypropylennetze wie TiLoop Bra®, die darüber hinaus eine verbesserte Biokompatibilität versprechen. Ziel dieser tierexperimentellen Studie war es, den Stellenwert dieser Netze im Hinblick auf die Bildung einer periprothetischen Kapsel um Silikonimplantate zu untersuchen. Darüber hinaus wollten wir herausfinden, inwiefern die bakterielle Kontamination ursächlich für eine Kapselfibrose ist.

Material und Methode: Insgesamt implantierten wir 80 Mini-Implantate in das Dorsum von weiblichen Wistar Ratten. Der Versuch bestand aus vier Versuchsgruppen mit jeweils 20 Ratten. Bei zwei Versuchsgruppen wurde das Implantat mit einem TiLoop Bra® (pfmmedical, Köln) umhüllt; als Kontrolle verwendeten wir herkömmliche texturierte Implantate. Um den Einfluss der bakteriellen Kontamination auf die periprothetische Kapselbildung zu untersuchen, wurde jeweils einer der Gruppen mit dem gleichen Implantat intraoperativ eine Bakteriensuspension bestehend aus 3,2 x 10⁶ CFU des Bakteriums Staphylokokkus epidermidis in die Implantattasche injiziert. Die entstandenen Kapseln wurden nach 60 Tagen explantiert und histologisch, sowie immunhistochemisch aufgearbeitet und doppeltblind untersucht.

Ergebnisse: Makroskopisch fand sich in allen Gruppen eine vollständige Kapsel. Die TiLoop Bra® Netze bildeten mit dieser Kapsel eine "käfigartige", im Vergleich deutlich kräftigere Struktur. Die Kapseln um TiLoop Bra® umhüllte Implantate zeigten eine deutlich geringere Ausprägung der Kapseldicke, jedoch einen signifikant erhöhten Anteil von parallelen Myofibrillen in der Kapselarchitektur. Die verschiedenen Oberflächen zeigten ebenfalls eine sehr unterschiedliche Ausprägung in der entzündlichen Fremdkörperreaktion. Die Kapseln der TiLoop Bra® Implantate wiesen eine signifikant stärkere Fremdkörperreaktion auf.

Schlussfolgerung: Unsere Studie zeigt, dass durch die Modifikation der Implantatoberflächen, eine Veränderung der Kapselarchitektur hervorgerufen werden kann. TiLoop Bra® hat keine Vorteile in der Reduktion der Kapselfibrose und zeigt eine

vermehrte entzündliche Fremdkörperabwehrreaktion. Vielmehr könnte die eigentliche Indikation als kräftige Gewebeunterstützung bei geringem Haut-Weichteilmantel zur Brustrekonstruktionen geschärft werden.

7 Literaturverzeichnis

- 1. Czerny, *Plastischer Ersatz der Brusthus durch ein Lipoma.* Zentralbl Chir, 1895. **27**: p. 72.
- 2. Matton, G., A. Anseeuw, and F. De Keyser, *The history of injectable biomaterials and the biology of collagen.* Aesthetic Plast Surg., 1985. **9**: p. 133-140.
- 3. Milojevic, B., *Complications after silicone injection therapy in aesthetic plastic surgery.* Aesthetic Plast Surg., 1982. **6**: p. 203–206.
- 4. Varga, J., H.R. Schumacher, and S.A. Jimenez, *Systemic sclerosis after augmentation mammoplasty with silicone implants.* Ann Intern Med, 1989. **111**(5): p. 377-83.
- 5. Cronin TD, G.F., *Augmentation mammaplasty: a new "natural feel" prosthesis.* Excerpta Medica International Congress Series, 1963. **66:41**.
- 6. Poeppl, N., et al., *Does the surface structure of implants have an impact on the formation of a capsular contracture?* Aesthetic Plast Surg, 2007. **31**(2): p. 133-9.
- 7. Johnson, M., *Breast implants: history, safety, and imaging.* Radiol Technol, 2013. **84**(5): p. 439M-515M; quiz 516M-520M.
- 8. Barker, D.E., M.I. Retsky, and S. Schultz, "Bleeding" of silicone from bag-gel breast implants, and its clinical relation to fibrous capsule reaction. Plast Reconstr Surg, 1978. **61**(6): p. 836-41.
- 9. Gayou, R.M., *A histological comparison of contracted and non-contracted capsules around silicone breast implants.* Plast Reconstr Surg, 1979. **63**(5): p. 700-7.
- 10. Berger A. und Hierner R. (Hrsg.): *Plastische Chirurgie: Grundlagen Prinzipien Techniken*. 1 Aufl., Springer-Verlag, Berlin, 2003
- 11. Bricout, N., [Chest morphology and breast augmentation]. Ann Chir Plast Esthet, 2005. **50**(5): p. 441-50.
- 12. Brandon, H.J., et al., *Variability in the properties of silicone gel breast implants.* Plast Reconstr Surg, 2001. **108**(3): p. 647-55.
- 13. Sergott, T.J., et al., *Human adjuvant disease, possible autoimmune disease after silicone implantation: a review of the literature, case studies, and speculation for the future.* Plast Reconstr Surg, 1986. **78**(1): p. 104-14.
- 14. Truong, L.D., et al., Silicone lymphadenopathy associated with augmentation mammaplasty. Morphologic features of nine cases. Am J Surg Pathol, 1988. **12**(6): p. 484-91.
- 15. Brown, S.L., et al., *Silicone gel breast implant rupture, extracapsular silicone, and health status in a population of women.* J Rheumatol, 2001. **28**(5): p. 996-1003.
- 16. Kessler, D.A., *The basis of the FDA's decision on breast implants.* N Engl J Med, 1992. **326**(25): p. 1713-5.
- 17. Gabriel, S.E., et al., *Risk of connective-tissue diseases and other disorders after breast implantation.* N Engl J Med, 1994. **330**(24): p. 1697-702.
- 18. Gampper, T.J., et al., *Silicone gel implants in breast augmentation and reconstruction*. Ann Plast Surg, 2007. **59**(5): p. 581-90.
- 19. Brinton, L.A., *The relationship of silicone breast implants and cancer at other sites.* Plast Reconstr Surg, 2007. **120**(7 Suppl 1): p. 94S-102S.

- 20. Noone, R.B., *A review of the possible health implications of silicone breast implants.* Cancer, 1997. **79**(9): p. 1747-56.
- 21. Perkins, L.L., et al., *A meta-analysis of breast implants and connective tissue disease.* Ann Plast Surg, 1995. **35**(6): p. 561-70.
- 22. Wong, O., A critical assessment of the relationship between silicone breast implants and connective tissue diseases. Regul Toxicol Pharmacol, 1996. **23**(1 Pt 1): p. 74-85.
- 23. Hochberg, M.C. and D.L. Perlmutter, *The association of augmentation mammoplasty with connective tissue disease, including systematic sclerosis (scleroderma): a meta-analysis.* Curr Top Microbiol Immunol, 1996. **210**: p. 411-7.
- 24. Janowsky, E.C., L.L. Kupper, and B.S. Hulka, *Meta-analyses of the relation between silicone breast implants and the risk of connective-tissue diseases.* N Engl J Med, 2000. **342**(11): p. 781-90.
- 25. Adams, W.P., Jr. and P. Mallucci, *Breast augmentation*. Plast Reconstr Surg, 2012. **130**(4): p. 598e-612e.
- 26. Walker, P.S., B. Walls, and D.K. Murphy, *Natrelle saline-filled breast implants: a prospective 10-year study.* Aesthet Surg J, 2009. **29**(1): p. 19-25.
- 27. DGÄPC ermittelt Zahlen zur Brustvergrößerung in Deutschland. Deutsche Gesellschaft für Ästhetisch-Plastische Chirurgie, 2012.
- 28. http://www.implantate.org/brustimplantate/implantatfuellung/silikonimplantate (Tag des Zugriffs: 23.05.2014)
- 29. Blount, A.L., et al., *Capsular contracture rate in a low-risk population after primary augmentation mammaplasty.* Aesthet Surg J, 2013. **33**(4): p. 516-21.
- 30. Handel, N., et al., *A long-term study of outcomes, complications, and patient satisfaction with breast implants.* Plast Reconstr Surg, 2006. **117**(3): p. 757-67; discussion 768-72.
- 31. Del Pozo, J.L., et al., *Pilot study of association of bacteria on breast implants with capsular contracture.* J Clin Microbiol, 2009. **47**(5): p. 1333-7.
- 32. Gabriel, S.E., et al., *Complications leading to surgery after breast implantation.* N Engl J Med, 1997. **336**(10): p. 677-82.
- 33. Radovanovic, Z., et al., Early complications after nipple-sparing mastectomy and immediate breast reconstruction with silicone prosthesis: results of 214 procedures. Scand J Surg, 2010. **99**(3): p. 115-8.
- 34. Heden, P., et al., *Long-term safety and effectiveness of style 410 highly cohesive silicone breast implants.* Aesthetic Plast Surg, 2009. **33**(3): p. 430-6; discussion 437-8.
- 35. Hvilsom, G.B., et al., Local complications after cosmetic breast augmentation: results from the Danish Registry for Plastic Surgery of the Breast. Plast Surg Nurs, 2010. **30**(3): p. 172-9.
- 36. Lista, F., et al., Subglandular Breast Augmentation with Textured, Anatomic, Cohesive Silicone Implants: A Review of 440 Consecutive Patients. Plast Reconstr Surg, 2013.
- 37. Adams, W.P., Jr., J.L. Rios, and S.J. Smith, *Enhancing patient outcomes in aesthetic and reconstructive breast surgery using triple antibiotic breast irrigation: six-year prospective clinical study.* Plast Reconstr Surg, 2006. **118**(7 Suppl): p. 46S-52S.

- 38. Araco, A., et al., *Capsular contracture: results of 3002 patients with aesthetic breast augmentation.* Plast Reconstr Surg, 2006. **118**(6): p. 1499-500; author reply 1500-2.
- 39. Handel, N., et al., *The fate of breast implants: a critical analysis of complications and outcomes.* Plast Reconstr Surg, 1995. **96**(7): p. 1521-33.
- 40. Wiener, T.C., *The role of betadine irrigation in breast augmentation.* Plast Reconstr Surg, 2007. **119**(1): p. 12-5; discussion 16-7.
- 41. Wiener, T.C., *Relationship of incision choice to capsular contracture.* Aesthetic Plast Surg, 2008. **32**(2): p. 303-6.
- 42. Huang, G.J., J.L. Wichmann, and D.C. Mills, *Transaxillary subpectoral augmentation mammaplasty: a single surgeon's 20-year experience.* Aesthet Surg J, 2011. **31**(7): p. 781-801.
- 43. Nemecek, J.A. and V.L. Young, *How safe are silicone breast implants?* South Med J, 1993. **86**(8): p. 932-44.
- 44. Information for Women About the Safety of Silicone Breast Implants, ed. M. Grigg, et al.2000, Washington DC: National Academy of Sciences.
- 45. Embrey, M., et al., *A review of the literature on the etiology of capsular contracture and a pilot study to determine the outcome of capsular contracture interventions.* Aesthetic Plast Surg, 1999. **23**(3): p. 197-206.
- 46. Ersek, R.A., Rate and incidence of capsular contracture: a comparison of smooth and textured silicone double-lumen breast prostheses. Plast Reconstr Surg, 1991. **87**(5): p. 879-84.
- 47. Pajkos, A., et al., *Detection of subclinical infection in significant breast implant capsules*. Plast Reconstr Surg, 2003. **111**(5): p. 1605-11.
- 48. Gylbert, L., O. Asplund, and G. Jurell, *Capsular contracture after breast reconstruction with silicone-gel and saline-filled implants: a 6-year follow-up.* Plast Reconstr Surg, 1990. **85**(3): p. 373-7.
- 49. Gutowski, K.A., G.T. Mesna, and B.L. Cunningham, Saline-filled breast implants: a Plastic Surgery Educational Foundation multicenter outcomes study. Plast Reconstr Surg, 1997. **100**(4): p. 1019-27.
- 50. Caffee, H.H., *The influence of silicone bleed on capsule contracture.* Ann Plast Surg, 1986. **17**(4): p. 284-7.
- 51. Cunningham, B.L., A. Lokeh, and K.A. Gutowski, *Saline-filled breast implant safety and efficacy: a multicenter retrospective review.* Plast Reconstr Surg, 2000. **105**(6): p. 2143-9; discussion 2150-1.
- 52. Murphy, D.K., M. Beckstrand, and D.B. Sarwer, *A prospective, multi-center study of psychosocial outcomes after augmentation with natrelle silicone-filled breast implants.* Ann Plast Surg, 2009. **62**(2): p. 118-21.
- 53. Gladfelter, J. and D. Murphy, *Breast augmentation motivations and satisfaction: a prospective study of more than 3,000 silicone implantations.* Plast Surg Nurs, 2008. **28**(4): p. 170-4; quiz 175-6.
- 54. Sarwer, D.B., et al., *Two-year results of a prospective, multi-site investigation of patient satisfaction and psychosocial status following cosmetic surgery.* Aesthet Surg J, 2008. **28**(3): p. 245-50.
- 55. Collis, N., et al., *Ten-year review of a prospective randomized controlled trial of textured versus smooth subglandular silicone gel breast implants.* Plast Reconstr Surg, 2000. **106**(4): p. 786-91.

- 56. Asplund, O., et al., *Textured or smooth implants for submuscular breast augmentation: a controlled study.* Plast Reconstr Surg, 1996. **97**(6): p. 1200-6.
- 57. Peters, W., et al., *An outcome analysis of 100 women after explantation of silicone gel breast implants.* Ann Plast Surg, 1997. **39**(1): p. 9-19.
- 58. Scully, S.J., *Augmentation mammaplasty without contracture.* Ann Plast Surg, 1981. **6**(4): p. 262-70.
- 59. Fodor, J., et al., [Radiotherapy and breast reconstruction: the issue of compatibility]. Orv Hetil, 2003. **144**(12): p. 549-55.
- 60. Kossovsky, N., et al., *Acceleration of capsule formation around silicone implants* by infection in a guinea pig model. Plast Reconstr Surg, 1984. **73**(1): p. 91-8.
- 61. Shah, Z., J.A. Lehman, Jr., and J. Tan, *Does infection play a role in breast capsular contracture?* Plast Reconstr Surg, 1981. **68**(1): p. 34-42.
- 62. Costerton, J.W., P.S. Stewart, and E.P. Greenberg, *Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections.* Science, 1999. **284**(5418): p. 1318-22.
- 63. Otto, M., *Molecular basis of Staphylococcus epidermidis infections.* Semin Immunopathol, 2012. **34**(2): p. 201-14.
- 64. Gristina, A.G. and J.W. Costerton, *Bacterial adherence to biomaterials and tissue. The significance of its role in clinical sepsis.* J Bone Joint Surg Am, 1985. **67**(2): p. 264-73.
- 65. Buret, A., et al., *An in vivo model to study the pathobiology of infectious biofilms on biomaterial surfaces.* J Biomed Mater Res, 1991. **25**(7): p. 865-74.
- 66. Hoyle, B.D., J. Jass, and J.W. Costerton, *The biofilm glycocalyx as a resistance factor.* J Antimicrob Chemother, 1990. **26**(1): p. 1-5.
- 67. Broekhuizen, C.A., et al., *Microscopic detection of viable Staphylococcus epidermidis in peri-implant tissue in experimental biomaterial-associated infection, identified by bromodeoxyuridine incorporation.* Infect Immun, 2010. **78**(3): p. 954-62.
- 68. Ward, K.H., et al., *Mechanism of persistent infection associated with peritoneal implants.* J Med Microbiol, 1992. **36**(6): p. 406-13.
- 69. Tang, H., et al., Effect of surface modification of siliconeon Staphylococcus epidermidis adhesion and colonization. J Biomed Mater Res A, 2007. **80**(4): p. 885-94.
- 70. O'Toole, G., H.B. Kaplan, and R. Kolter, *Biofilm formation as microbial development*. Annu Rev Microbiol, 2000. **54**: p. 49-79.
- 71. Tamboto, H., K. Vickery, and A.K. Deva, *Subclinical (biofilm) infection causes capsular contracture in a porcine model following augmentation mammaplasty.* Plast Reconstr Surg, 2010. **126**(3): p. 835-42.
- 72. Virden, C.P., et al., Subclinical infection of the silicone breast implant surface as a possible cause of capsular contracture. Aesthetic Plast Surg, 1992. **16**(2): p. 173-9.
- 73. Netscher, D.T., *Subclinical infection in breast capsules.* Plast Reconstr Surg, 2004. **114**(3): p. 818-20.
- 74. Steiert, A.E., M. Boyce, and H. Sorg, *Capsular contracture by silicone breast implants: possible causes, biocompatibility, and prophylactic strategies.* Med Devices (Auckl), 2013. **6**: p. 211-218.
- 75. Elter, C., et al., Comparative analysis of biofilm formation on dental implant abutments with respect to supra- and subgingival areas: polytetrafluoroethylene versus titanium. Int J Prosthodont, 2011. **24**(4): p. 373-5.

- 76. Lindel, I.D., et al., *Comparative analysis of long-term biofilm formation on metal and ceramic brackets.* Angle Orthod, 2011. **81**(5): p. 907-14.
- 77. Pittet, B., D. Montandon, and D. Pittet, *Infection in breast implants*. Lancet Infect Dis, 2005. **5**(2): p. 94-106.
- 78. Adams, W.P., Jr., et al., *Optimizing breast pocket irrigation: an in vitro study and clinical implications.* Plast Reconstr Surg, 2000. **105**(1): p. 334-8; discussion 339-43.
- 79. Bartsich, S., et al., *The breast: a clean-contaminated surgical site.* Aesthet Surg J, 2011. **31**(7): p. 802-6.
- 80. Thornton, J.W., et al., *Studies on the endogenous flora of the human breast.* Ann Plast Surg, 1988. **20**(1): p. 39-42.
- 81. Takayanagi, S., C. Nakagawa, and Y. Sugimoto, *Augmentation mammaplasty:* where should the implant be placed? Aesthetic Plast Surg, 2004. **28**(2): p. 83-8.
- 82. Dobke, M.K., et al., *Characterization of microbial presence at the surface of silicone mammary implants.* Ann Plast Surg, 1995. **34**(6): p. 563-9; disscusion 570-1.
- 83. Schreml, S., et al., *Bacterial colonization is of major relevance for high-grade capsular contracture after augmentation mammaplasty.* Ann Plast Surg, 2007. **59**(2): p. 126-30.
- 84. Marques, M., et al., *Effects of coagulase-negative staphylococci and fibrin on breast capsule formation in a rabbit model.* Aesthet Surg J, 2011. **31**(4): p. 420-8.
- 85. Young, V.L., et al., *Microbial growth inside saline-filled breast implants.* Plast Reconstr Surg, 1997. **100**(1): p. 182-96.
- 86. Netscher, D.T., et al., *Clinical relevance of positive breast periprosthetic cultures without overt infection.* Plast Reconstr Surg, 1995. **96**(5): p. 1125-9.
- 87. Burkhardt, B.R., et al., *Capsules, infection, and intraluminal antibiotics.* Plast Reconstr Surg, 1981. **68**(1): p. 43-9.
- 88. Courtiss, E.H., R.M. Goldwyn, and G.W. Anastasi, *The fate of breast implants with infections around them.* Plast Reconstr Surg, 1979. **63**(6): p. 812-6.
- 89. Burkhardt, B.R., et al., *Capsular contracture: a prospective study of the effect of local antibacterial agents.* Plast Reconstr Surg, 1986. **77**(6): p. 919-32.
- 90. Ahn, C.Y., et al., *Microbial evaluation: 139 implants removed from symptomatic patients.* Plast Reconstr Surg, 1996. **98**(7): p. 1225-9.
- 91. Netscher, D.T., et al., *A review of 198 patients (389 implants) who had breast implants removed.* J Long Term Eff Med Implants, 1995. **5**(1): p. 11-8.
- 92. Freedman, A.M. and I.T. Jackson, *Infections in breast implants.* Infect Dis Clin North Am, 1989. **3**(2): p. 275-87.
- 93. Wickman, M., et al., A comparison of the capsules around smooth and textured silicone prostheses used for breast reconstruction. A light and electron microscopic study. Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg, 1993. **27**(1): p. 15-22.
- 94. Luke, J.L., et al., *Pathological and biophysical findings associated with silicone breast implants: a study of capsular tissues from 86 cases.* Plast Reconstr Surg, 1997. **100**(6): p. 1558-65.
- 95. Rubino, C., et al., *Ultrastructural anatomy of contracted capsules around textured implants in augmented breasts.* Ann Plast Surg, 2001. **46**(2): p. 95-102.

- 96. Raso, D.S. and W.B. Greene, *Silicone breast implants: pathology.* Ultrastruct Pathol, 1997. **21**(3): p. 263-71.
- 97. Siggelkow, W., et al., *In vitro analysis of modified surfaces of silicone breast implants.* Int J Artif Organs, 2004. **27**(12): p. 1100-8.
- 98. Spear, S.L. and J.L. Baker, Jr., *Classification of capsular contracture after prosthetic breast reconstruction.* Plast Reconstr Surg, 1995. **96**(5): p. 1119-23; discussion 1124.
- 99. Alfano, C., M. Mazzocchi, and N. Scuderi, *Mammary compliance: an objective measurement of capsular contracture.* Aesthetic Plast Surg, 2004. **28**(2): p. 75-9.
- 100. Wilflingseder, P., G. Hoinkes, and G. Mikuz, *Tissue reactions from silicone implant in augmentation mammaplasties.* Minerva Chir, 1983. **38**(12): p. 877-80
- 101. Bergmann, P.A., et al., [Histological and Immunohistochemical Study of Capsular Contracture in an Animal Model A Comparison of two Implants According to a Modification of Wilflingseder's Classification.]. Handchir Mikrochir Plast Chir, 2012.
- 102. Siggelkow, W., et al., *Histological analysis of silicone breast implant capsules and correlation with capsular contracture.* Biomaterials, 2003. **24**(6): p. 1101-9.
- 103. Prantl, L., et al., Serologic and histologic findings in patients with capsular contracture after breast augmentation with smooth silicone gel implants: is serum hyaluronan a potential predictor? Aesthetic Plast Surg, 2005. **29**(6): p. 510-8.
- 104. Hwang, K., et al., *Myofibroblasts and capsular tissue tension in breast capsular contracture.* Aesthetic Plast Surg, 2010. **34**(6): p. 716-21.
- 105. Rudolph, R., et al., *Myofibroblasts and free silicon around breast implants.* Plast Reconstr Surg, 1978. **62**(2): p. 185-96.
- 106. Ko, C.Y., et al., *Capsular synovial metaplasia as a common response to both textured and smooth implants.* Plast Reconstr Surg, 1996. **97**(7): p. 1427-33; discussion 1434-5.
- 107. Copeland, M., M. Choi, and I.J. Bleiweiss, *Silicone breakdown and capsular synovial metaplasia in textured-wall saline breast prostheses.* Plast Reconstr Surg, 1994. **94**(5): p. 628-33; discussion 634-6.
- 108. Hameed, M.R., R. Erlandson, and P.P. Rosen, *Capsular synovial-like hyperplasia* around mammary implants similar to detritic synovitis. A morphologic and immunohistochemical study of 15 cases. Am J Surg Pathol, 1995. **19**(4): p. 433-8.
- 109. Yeoh, G., P. Russell, and E. Jenkins, *Spectrum of histological changes reactive to prosthetic breast implants: a clinopathological study of 84 patients.* Pathology, 1996. **28**(3): p. 232-5.
- 110. Raso, D.S. and W.B. Greene, *Synovial metaplasia of a periprosthetic capsule surrounding a polyurethane foam breast prosthesis.* Ann Plast Surg, 1995. **35**(2): p. 201-3.
- 111. Wyatt, L.E., et al., *The influence of time on human breast capsule histology:* smooth and textured silicone-surfaced implants. Plast Reconstr Surg, 1998. **102**(6): p. 1922-31.

- 112. Zimman, O.A., et al., *The effects of angiotensin-converting-enzyme inhibitors on the fibrous envelope around mammary implants.* Plast Reconstr Surg, 2007. **120**(7): p. 2025-33.
- 113. Toblli, J.E., et al., *Enalapril prevents fatty liver in nephrotic rats.* J Nephrol, 2002. **15**(4): p. 358-67.
- 114. Ferder, L.F., F. Inserra, and N. Basso, *Advances in our understanding of aging:* role of the renin-angiotensin system. Curr Opin Pharmacol, 2002. **2**(2): p. 189-94.
- 115. Moreira, M., et al., *Zafirlukast pocket delivery impairs the capsule healing around textured implants in rats.* Aesthetic Plast Surg, 2009. **33**(1): p. 90-7.
- 116. Bastos, E.M., et al., *Effect of zafirlukast on capsular contracture around silicone implants in rats.* Acta Cir Bras, 2012. **27**(1): p. 1-6.
- 117. Benlier, E., et al., *Effect of verapamil on reduction of peri-implant capsular thickness.* Aesthetic Plast Surg, 2009. **33**(4): p. 570-5.
- 118. Gosau, M., et al., *Effectiveness of antibacterial copper additives in silicone implants*. J Biomater Appl, 2012.
- 119. Gosau, M., et al., *The effects of copper additives on the quantity and cell viability of adherent Staphylococcus epidermidis in silicone implants.* Biofouling, 2010. **26**(3): p. 359-65.
- 120. Neel, E.A., et al., *Characterisation of antibacterial copper releasing degradable phosphate glass fibres.* Biomaterials, 2005. **26**(15): p. 2247-54.
- 121. Bergmann, P., et al., *Histological analysis of capsule formation around silicone implants and comparison with titanium-coated silicone implants in rats.* European Journal of Plastic Surgery, 2012. **35**: p. 19-24.
- 122. Daniels, A.U., *Silicone breast implant materials.* Swiss Med Wkly, 2012. **142**: p. w13614.
- 123. Quatela, V.C. and J. Chow, *Synthetic facial implants*. Facial Plast Surg Clin North Am, 2008. **16**(1): p. 1-10, v.
- 124. Chin, T., et al., *Experimental analysis of silicone leakage*. J Nippon Med Sch, 2009. **76**(2): p. 109-12.
- 125. LeVier, R.R., et al., *What is silicone?* Plast Reconstr Surg, 1993. **92**(1): p. 163-7.
- 126. Sindali, K., et al., *The natural history of Becker expandable breast implants: a single-center 10-year experience.* Plast Reconstr Surg, 2013. **132**(3): p. 345e-51e.
- 127. Ma, S.L. and W.C. Gao, [Capsular contracture in breast augmentation with textured versus smooth mammary implants: a systematic review]. Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi, 2008. **24**(1): p. 71-4.
- 128. Barnsley, G.P., L.J. Sigurdson, and S.E. Barnsley, *Textured surface breast implants in the prevention of capsular contracture among breast augmentation patients: a meta-analysis of randomized controlled trials.* Plast Reconstr Surg, 2006. **117**(7): p. 2182-90.
- 129. Hakelius, L. and L. Ohlsen, *Tendency to capsular contracture around smooth and textured gel-filled silicone mammary implants: a five-year follow-up.* Plast Reconstr Surg, 1997. **100**(6): p. 1566-9.
- 130. Clugston, P.A., et al., *A rat model for capsular contracture: the effects of surface texturing.* Ann Plast Surg, 1994. **33**(6): p. 595-9.

- 131. Wong, C.H., et al., Capsular contracture in subglandular breast augmentation with textured versus smooth breast implants: a systematic review. Plast Reconstr Surg, 2006. **118**(5): p. 1224-36.
- 132. Bucky, L.P., et al., *The capsule quality of saline-filled smooth silicone, textured silicone, and polyurethane implants in rabbits: a long-term study.* Plast Reconstr Surg, 1994. **93**(6): p. 1123-31; discussion 1132-3.
- 133. Smahel, J., P.J. Hurwitz, and N. Hurwitz, *Soft tissue response to textured silicone implants in an animal experiment.* Plast Reconstr Surg, 1993. **92**(3): p. 474-9.
- 134. Raso, D.S., L.W. Crymes, and J.S. Metcalf, *Histological assessment of fifty breast capsules from smooth and textured augmentation and reconstruction mammoplasty prostheses with emphasis on the role of synovial metaplasia.* Mod Pathol, 1994. **7**(3): p. 310-6.
- 135. Friemann, J., et al., [Physiologic and pathologic patterns of reaction to silicone breast implants]. Zentralbl Chir, 1997. **122**(7): p. 551-64.
- 136. Tarpila, E., et al., Capsular contracture with textured versus smooth saline-filled implants for breast augmentation: a prospective clinical study. Plast Reconstr Surg, 1997. **99**(7): p. 1934-9.
- 137. Ashley, F.L., *A new type of breast prosthesis. Preliminary report.* Plast Reconstr Surg, 1970. **45**(5): p. 421-4.
- 138. Szycher, M. and A.A. Siciliano, *Polyurethane-covered mammary prosthesis: a nine year follow-up assessment.* J Biomater Appl, 1991. **5**(4): p. 282-322.
- 139. Batich, C., J. Williams, and R. King, *Toxic hydrolysis product from a biodegradable foam implant.* J Biomed Mater Res, 1989. **23**(A3 Suppl): p. 311-9.
- 140. Amin, P., et al., *Analysis of the extractive and hydrolytic behavior of microthane poly(ester-urethane) foam by high pressure liquid chromatography.* J Biomed Mater Res, 1993. **27**(5): p. 655-66.
- 141. Brand, K.G., *Polyurethane-coated silicone implants and the question of capsular contracture.* Plast Reconstr Surg, 1984. **73**(3): p. 498.
- 142. Handel, N. and J. Gutierrez, *Long-term safety and efficacy of polyurethane foam-covered breast implants.* Aesthet Surg J, 2006. **26**(3): p. 265-74.
- 143. Vazquez, G. and A. Pellon, *Polyurethane-coated silicone gel breast implants used for 18 years.* Aesthetic Plast Surg, 2007. **31**(4): p. 330-6.
- 144. Simon, J.P. and G. Fabry, *An overview of implant materials.* Acta Orthop Belg, 1991. **57**(1): p. 1-5.
- 145. Branemark, P.I., et al., Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. Scand J Plast Reconstr Surg Suppl, 1977. **16**: p. 1-132.
- 146. Gear, A.J., et al., *Safety of titanium mesh for orbital reconstruction.* Ann Plast Surg, 2002. **48**(1): p. 1-7; discussion 7-9.
- 147. Arens, S., et al., *Influence of materials for fixation implants on local infection. An experimental study of steel versus titanium DCP in rabbits.* J Bone Joint Surg Br, 1996. **78**(4): p. 647-51.
- 148. Hernandez-Richter, T., et al., [Titanium-coated silicone is not effective for preventing graft infection]. Zentralbl Chir, 2007. **132**(1): p. 32-7.
- 149. Scheidbach, H., et al., In vivo studies comparing the biocompatibility of various polypropylene meshes and their handling properties during endoscopic total

- extraperitoneal (TEP) patchplasty: an experimental study in pigs. Surg Endosc, 2004. **18**(2): p. 211-20.
- 150. Amid, P.K., et al., *Biomaterials for "tension-free" hernioplasties and principles of their applications.* Minerva Chir, 1995. **50**(9): p. 821-6.
- 151. Bellon, J.M., et al., Comparison of a new type of polytetrafluoroethylene patch (Mycro Mesh) and polypropylene prosthesis (Marlex) for repair of abdominal wall defects. J Am Coll Surg, 1996. **183**(1): p. 11-8.
- 152. Schardey, H.M., et al., [Titanised polypropylene meshes: first clinical experience with the implantation in TAPP technique and the results of a survey in 22 German surgical departments]. Zentralbl Chir, 2004. **129**(5): p. 363-8.
- 153. Scheidbach, H., et al., *Biokompatibilität verschiedener Polypropylen-Netze unter Berücksichtigung der Handhabbarkeit bei der totalen extraperitonealen Patchplastik (TEP)*. 1st ed. Minimal Invasive Chirurgie 2003, Hannover: Science Med.
- 154. Paepke, S., M. Niemeyer, and J. Krol, *Erfahrungen mit dem Einsatz eines titanisierten Polypropylennetzes in der onkoplastischen Brustchirurgie.* Praktische Gynäkologie gyn, 2010. **15**: p. 150-156.
- 155. Dieterich, M., et al., *Using a titanium-coated polypropylene mesh (TiLOOP((R)) Bra) for implant-based breast reconstruction: case report and histological analysis.* Arch Gynecol Obstet, 2012. **286**(1): p. 273-6.
- 156. Dieterich, M., et al., *A short-term follow-up of implant based breast reconstruction using a titanium-coated polypropylene mesh (TiLoop((R)) Bra).* Eur J Surg Oncol, 2012. **38**(12): p. 1225-30.
- 157. Mack, D., N. Siemssen, and R. Laufs, *Parallel induction by glucose of adherence* and a polysaccharide antigen specific for plastic-adherent Staphylococcus epidermidis: evidence for functional relation to intercellular adhesion. Infect Immun, 1992. **60**(5): p. 2048-57.
- 158. Mendes, P.R., et al., *Histological study on acute inflammatory reaction to polyurethane-coated silicone implants in rats.* Acta Cir Bras, 2008. **23**(1): p. 93-101.
- 159. Kobayashi, H., et al., *Improved detection of biofilm-formative bacteria by vortexing and sonication: a pilot study.* Clin Orthop Relat Res, 2009. **467**(5): p. 1360-4.
- 160. Trampuz, A., et al., *Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection.* N Engl J Med, 2007. **357**(7): p. 654-63.
- 161. Papadimitriou, C.S., H. Stein, and K. Lennert, *The complexity of immunohistochemical staining pattern of Hodgkin and Sternberg-reed cells-demonstration of immunoglobulin, albumin, alpha1-antichymotrypsin and lysozyme.* Int J Cancer, 1978. **21**(5): p. 531-41.
- 162. Torlakovic, E., et al., *The value of anti-pax-5 immunostaining in routinely fixed and paraffin-embedded sections: a novel pan pre-B and B-cell marker.* Am J Surg Pathol, 2002. **26**(10): p. 1343-50.
- 163. Skalli, O., et al., Alpha-smooth muscle actin, a differentiation marker of smooth muscle cells, is present in microfilamentous bundles of pericytes. J Histochem Cytochem, 1989. **37**(3): p. 315-21.
- 164. Falini, B., et al., Expression of lymphoid-associated antigens on Hodgkin's and Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. An immunocytochemical study on

- lymph node cytospins using monoclonal antibodies. Histopathology, 1987. **11**(12): p. 1229-42.
- 165. Rawstron, A.C., *Immunophenotyping of plasma cells.* Curr Protoc Cytom, 2006. **Chapter 6**: p. Unit6 23.
- 166. Rieger, U.M., et al., *Bacterial biofilms and capsular contracture in patients with breast implants.* Br J Surg, 2013. **100**(6): p. 768-74.
- 167. Prantl, L., et al., *Clinical and morphological conditions in capsular contracture formed around silicone breast implants.* Plast Reconstr Surg, 2007. **120**(1): p. 275-84.
- 168. Schmitz, M., et al., Experimental total wrapping of breast implants with acellular dermal matrix: A preventive tool against capsular contracture in breast surgery? J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2013.
- 169. Goldberg, E.P., *Silicone breast implant safety: physical, chemical, and biologic problems.* Plast Reconstr Surg, 1997. **99**(1): p. 258-61.
- 170. Dieterich, M., et al., *Implant-based breast reconstruction using a titanium-coated polypropylene mesh (TiLOOP Bra): a multicenter study of 231 cases.* Plast Reconstr Surg, 2013. **132**(1): p. 8e-19e.
- 171. Holmich, L.R., et al., *Breast implant rupture and connective tissue disease: a review of the literature.* Plast Reconstr Surg, 2007. **120**(7 Suppl 1): p. 62S-69S.
- 172. Vieira, V.J., et al., *Vascular endothelial growth factor overexpression positively modulates the characteristics of periprosthetic tissue of polyurethane-coated silicone breast implant in rats.* Plast Reconstr Surg, 2010. **126**(6): p. 1899-910.
- 173. Ajmal, N., et al., *The effectiveness of sodium 2-mercaptoethane sulfonate (mesna) in reducing capsular formation around implants in a rabbit model.* Plast Reconstr Surg, 2003. **112**(5): p. 1455-61; discussion 1462-3.
- 174. Vacanti, F.X., *PHEMA* as a fibrous capsule-resistant breast prosthesis. Plast Reconstr Surg, 2004. **113**(3): p. 949-52.
- 175. Atamas, S.P. and B. White, *The role of chemokines in the pathogenesis of scleroderma*. Curr Opin Rheumatol, 2003. **15**(6): p. 772-7.
- 176. Gabbiani, G., G.B. Ryan, and G. Majne, *Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction.* Experientia, 1971. **27**(5): p. 549-50.
- 177. Schurch, W., T.A. Seemayer, and G. Gabbiani, *The myofibroblast: a quarter century after its discovery.* Am J Surg Pathol, 1998. **22**(2): p. 141-7.
- 178. Hinz, B., et al., *The myofibroblast: one function, multiple origins.* Am J Pathol, 2007. **170**(6): p. 1807-16.
- 179. Baker, J.L., Jr., M.L. Chandler, and R.R. LeVier, *Occurrence and activity of myofibroblasts in human capsular tissue surrounding mammary implants.* Plast Reconstr Surg, 1981. **68**(6): p. 905-12.
- 180. Lossing, C. and H.A. Hansson, *Peptide growth factors and myofibroblasts in capsules around human breast implants.* Plast Reconstr Surg, 1993. **91**(7): p. 1277-86.
- 181. Coleman, D.J., et al., *The role of the contractile fibroblast in the capsules around tissue expanders and implants.* Br J Plast Surg, 1993. **46**(7): p. 547-56.
- 182. Stevens, W.G., et al., *Risk factor analysis for capsular contracture: a 5-year Sientra study analysis using round, smooth, and textured implants for breast augmentation.* Plast Reconstr Surg, 2013. **132**(5): p. 1115-23.

- 183. Otto, M., *Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity.* Annu Rev Med, 2013. **64**: p. 175-88.
- 184. Minami, E., et al., *The composition and behavior of capsules around smooth and textured breast implants in pigs.* Plast Reconstr Surg, 2006. **118**(4): p. 874-84.
- 185. Ojo-Amaize, E.A., et al., *Silicone-specific blood lymphocyte response in women with silicone breast implants.* Clin Diagn Lab Immunol, 1994. **1**(6): p. 689-95.
- 186. Gerszten, P.C., *A formal risk assessment of silicone breast implants.* Biomaterials, 1999. **20**(11): p. 1063-9.
- 187. Karlson, E.W., et al., *Association of silicone breast implants with immunologic abnormalities: a prospective study.* Am J Med, 1999. **106**(1): p. 11-9.
- 188. Smalley, D.L., D.R. Shanklin, and M.F. Hall, *Monocyte-dependent stimulation of human T cells by silicon dioxide.* Pathobiology, 1998. **66**(6): p. 302-5.
- 189. Wolfram, D., et al., *T regulatory cells and TH17 cells in peri-silicone implant capsular fibrosis.* Plast Reconstr Surg, 2012. **129**(2): p. 327e-337e.
- 190. Tavazzani, F., et al., *In vitro interaction between silicone gel and human monocyte-macrophages.* J Biomed Mater Res A, 2005. **72**(2): p. 161-7.
- 191. Burkhardt, B.R., *Capsular contracture: hard breasts, soft data.* Clin Plast Surg, 1988. **15**(4): p. 521-32.
- 192. Pascual, G., et al., *Inflammatory reaction and neotissue maturation in the early host tissue incorporation of polypropylene prostheses.* Hernia, 2012. **16**(6): p. 697-707.
- 193. Grotenhuis, N., et al., *In vitro model to study the biomaterial-dependent reaction of macrophages in an inflammatory environment.* Br J Surg, 2014. **101**(8): p. 983-92.
- 194. Grotenhuis, N., et al., *A culture model to analyze the acute biomaterial-dependent reaction of human primary macrophages.* Biochem Biophys Res Commun, 2013. **433**(1): p. 115-20.
- 195. Kamel, M., V.L. Fornasier, and W. Peters, *Cartilaginous metaplasia in the capsule of a Dacron-backed silicone gel breast prosthesis*. Ann Plast Surg, 1999. **42**(2): p. 202-6.
- 196. Macadam, S.A., P.A. Clugston, and E.T. Germann, Retrospective case review of capsular contracture after two-stage breast reconstruction: is colonization of the tissue expander pocket associated with subsequent implant capsular contracture? Ann Plast Surg, 2004. 53(5): p. 420-4.
- 197. Stump, A., et al., *The use of acellular dermal matrix to prevent capsule formation around implants in a primate model.* Plast Reconstr Surg, 2009. **124**(1): p. 82-91.

8 Abbildungsverzeichnis

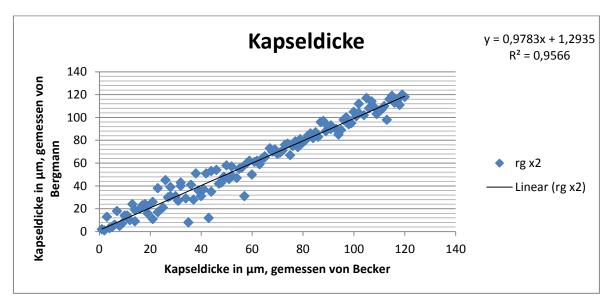
Abbildung 1: Beispielhafte Darstellung des PDMS [122]1	١6
Abbildung 2: Darstellung des dreidimensionalen Netzwerks des PDMS [122] 1	16
Abbildung 3: Darstellung der verwendeten Implantate (links: Texturiertes	
Silikongelimplantat im Vergleich zu einer Ein-Euromünze; rechts: Netzumhülltes	
Silikongelimplantat)2	25
Abbildung 4: Beispiel eines texturierten Silikongelimplantats in situ der Ratte nach	
Implantation2	27
Abbildung 5: Beispiel eines texturierten Silikongelimplantats in situ der Ratte bei	
Explantation. Die dünne Kapsel mit den intrakapsulären Gefäßen ist gut sichtbar 2	29
Abbildung 6: Beispiel eines netzumhüllten Silikongelimplantats in situ der Ratte bei	
Explantation (links: Implantat mit geschlossener Kapsel; rechts: Zurückbleibende Kapsel	
nach entferntem Implantat)2	<u> 1</u> 9
Abbildung 7: Prinzip der indirekten Immunhistochemie3	32
Abbildung 8: Graphisch dargestellter Versuchsaufbau mit verwendetem Tierkollektiv 3	39
Abbildung 9: Häufigkeit der Zelllagen bei verschiedenen Implantaten inkl. bakterieller	
Kontamination4	łO
Abbildung 10: Beispiel einer Kapsel eines netzumhüllten Implantats mit einem	
dreischichtigen Aufbau. Trichrom Färbung nach Masson Goldner, 10fache Vergrößerung	
4	łO
Abbildung 11: Vergleich der Kapseldicke in μ m unter Berücksichtigung des Implantattyps	
inkl. bakterieller Kontamination. Boxplot Darstellung unter Angabe von Median,	
Quartilsabstand $Q_{0,75}$ – $Q_{0,25}$ und Verteilsbereich, ° = Ausreißerwerte4	ŀ2
Abbildung 12: Vergleich des prozentualen Anteils der Myofibroblasten an der	
Gesamtkapsel unter Berücksichtigung des Implantattyps inkl. bakterieller Kontamination	•
Boxplot Darstellung unter Angabe von Median, Quartilsabstand $Q_{0,75}$ – $Q_{0,25}$ und	
Verteilsbereich, ° = Ausreißerwerte4	l3
Abbildung 13: Beispiel einer Kapsel eines texturierten Implantats mit Ausprägung einer	
Myofibroblastenzone im unteren Teil der Kapsel zu erkennen. Immunhistochemische	
Färbung des α-SM-Aktins, 10fache Vergrößerung4	14

Abbildung 14: Beispiel einer Kapsel eines netzumhüllten Implantats mit Ausprägung einer
Myofibroblastenzone auf der linken Seite der Kapsel. Immunhistochemische Färbung des
α-SM-Aktins, 10fache Vergrößerung44
Abbildung 15: Beispiel einer Kapsel mit Ausprägung einer synovialen Metaplasiezone auf
der linken Seite der Kapsel. Trichrom Färbung nach Masson Goldner, 10fache
Vergrößerung46
Abbildung 16: Beispiel einer Kapsel eines texturierten Implantats mit Ausprägung einer
synovialen Metaplasiezone. Trichrom Färbung nach Masson Goldner, 40fache
Vergrößerung46
Abbildung 17: Korrelation der Kapseldicke mit der Dicke der SLM, $r = 0.337$; $p = 0.002 47$
Abbildung 18: Ausprägung der Angiogenese bei verschiedenen Implantaten inkl.
bakterieller Kontamination
Abbildung 19: Beispiel einer Kapsel eines texturierten Implantats mit mäßiger Ausprägung
der Blutgefäße. Trichrom Färbung nach Masson Goldner, 10fache Vergrößerung 48
Abbildung 20: Verteilung der Entzündungszellen bei den unterschiedlichen
Implantattypen49
Abbildung 21: Beispiel einer Kapsel eines netzumhüllten Implantats mit starker
Ausprägung CD3 positiver Lymphozyten. Immunhistochemische Färbung mit CD3
positiven Antikörpern, 20fache Vergrößerung50
Abbildung 22: Beispiel einer Kapsel eines texturierten Implantats mit mäßiger Ausprägung
CD3 positiver Lymphozyten. Immunhistochemische Färbung mit CD3 positiven
Antikörpern, 20fache Vergrößerung51
Abbildung 23: Beispiel einer Kapsel eines netzumhüllten Implantats mit starker
Ausprägung CD138 positiven Plasmazellen. Immunhistochemische Färbung mit CD138
positiven Antikörpern, 40fache Vergrößerung51
Abbildung 24: Beispiel einer Kapsel eines texturierten Implantats mit einem
zweischichtigen Aufbau. Vereinzelt sich Granulozyten erkennbar. Naphthol-AS-D-
Chloracetatesterase-Färbung, 10fache Vergrößerung52
Abbildung 25: Vergleich der Entzündungszellen unter Berücksichtigung der verschiedenen
Implantattypen inkl. bakterieller Kontamination. Boxplot Darstellung unter Angabe von
Median, Quartilsabstand Q _{0.75} – Q _{0.25} und Verteilsbereich

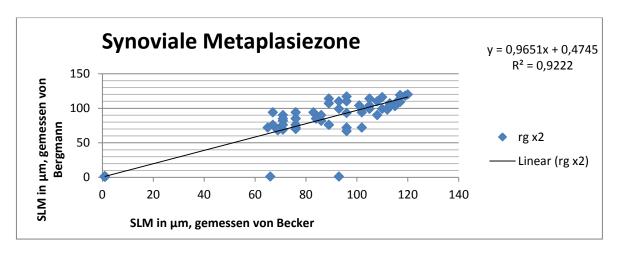
9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Merkmale von Brustimplantaten der verschiedenen Generationen [12]	2
Tabelle 2: Einteilung der Kapselfibrose nach Baker [98]	10
Tabelle 3: Einteilung der Kapselfibrose nach Wilflingseder [100]	11
Tabelle 4: Einteilung der Kapselfibrose nach Bergmann [101]	12
Tabelle 5: Gliederung der Untersuchungsgruppen	24
Tabelle 6: Darstellung der immunhistochemischen Färbungen	32
Tabelle 7: Übersicht der verwendeten Versuchstiere und Bakterien	34
Tabelle 8: Übersicht der verwendeten Antikörper	34
Tabelle 9: Übersicht der verwendeten Chemikalien	35
Tabelle 10: Übersicht über weitere verwendete Materialien	36
Tabelle 11: Übersicht der verwendeten Geräte und Hilfsmittel	36
Tabelle 12: Übersicht der verwendeten Hilfsmittel	36
Tabelle 13: Übersichtliche Darstellung zur Auswertung der Angiogenese	37
Tabelle 14: Übersicht von ausgewählten Tiermodellen zur Beurteilung der	
Kapselarchitektur nach perioperativer Bakterien-Instillation	67

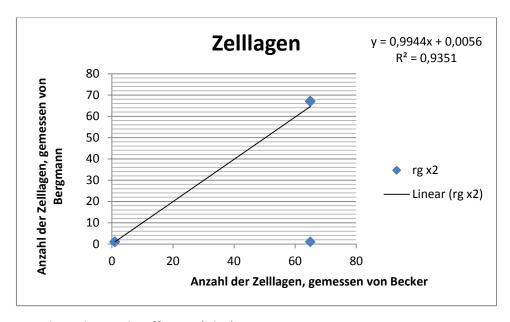
10 Anhang



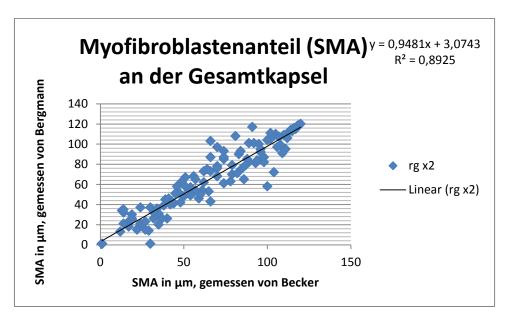
Rangkorrelationskoeffizient (Rho): 0,978059303



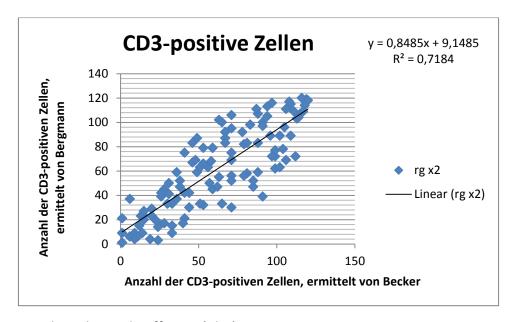
Rangkorrelationskoeffizient (Rho): 0,960312449



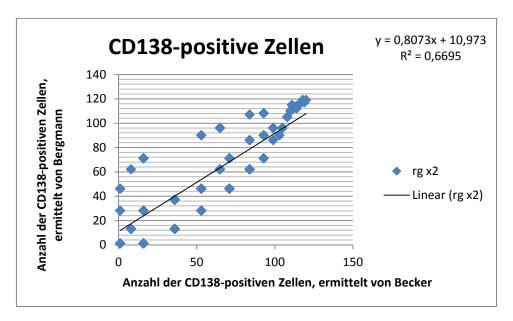
Rangkorrelationskoeffizient (Rho): 0,967005688



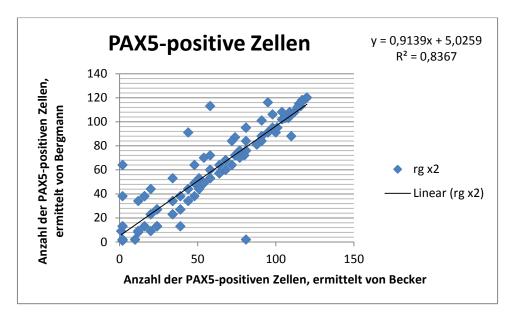
Rangkorrelationskoeffizient (Rho): 0,944722181



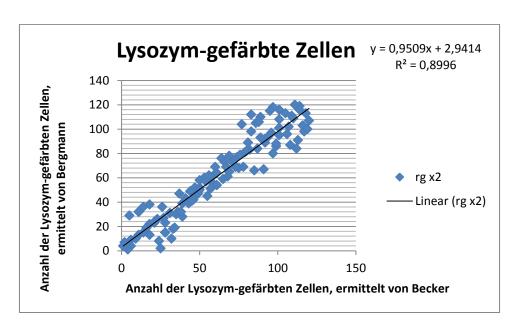
Rangkorrelationskoeffizient (Rho): 0,847584804



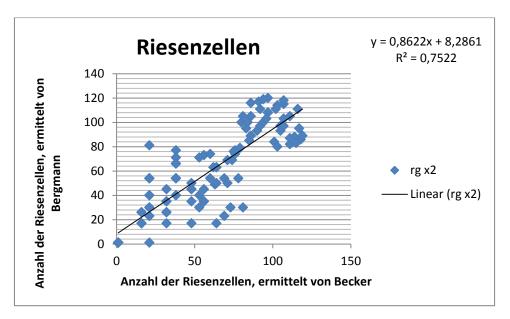
Rangkorrelationskoeffizient (Rho): 0,818229797



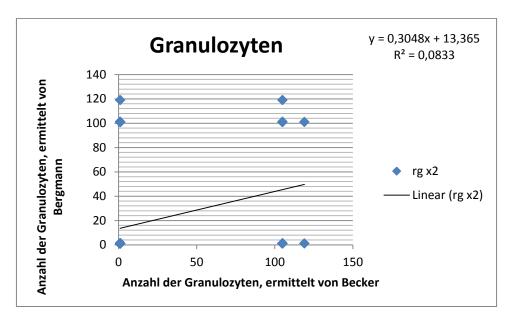
Rangkorrelationskoeffizient (Rho): 0,91471307



Rangkorrelationskoeffizient (Rho): 0,948472456



Rangkorrelationskoeffizient (Rho): 0,867294644



Rangkorrelationskoeffizient (Rho): 0,288617394

11 Danksagung

Die Ihnen vorliegende wissenschaftliche Arbeit zum Thema "Beurteilung der Biokompatibilität unterschiedlicher Silikonprothesen unter spezieller Betrachtung der antiinflammatorischen Wirkung verschiedener Beschichtungen im Tiermodell" konnte nur mit der freundlichen Unterstützung einiger Personen vollendet werden.

Ganz besonderer Dank gilt meinem Betreuer Dr. med. Philipp Alexander Bergmann. Durch sein Engagement und seine Ambition für das wissenschaftliche Arbeiten ist es mir vielleicht erst möglich gewesen meine Promotion in dieser Art und Weise fertig zu stellen. Er hat mich die gesamte Zeit über mit wertvollen Beiträgen und intensiven thematischen Diskussionen tatkräftig unterstützt und mich in das wissenschaftliche Arbeiten eingeführt. Vielen Dank für die vorbildliche Betreuung, der Zusammenarbeit während der Versuche und der kritischen Korrekturen meiner vorläufigen Dissertation. Darüber hinaus möchte ich ganz herzlich meinem Doktorvater Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Frank Siemers danken, der mir dieses Thema für meine Dissertation zur Verfügung gestellt hat und mich währenddessen mit lehrreichen Tipps zur Bearbeitung der Dissertation versorgt hat.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Johannes Knobloch und Justina Bimschas für die tolle Unterstützung und die bereichernden Tipps bezüglich aller mikrobiologischen Fragen, die sich während meiner Arbeit ergaben. Außerdem danke ich für die Einweisung und Mitbenutzung der Geräte in den Räumlichkeiten im Institut für Mikrobiologie.

Mein weiterer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Alfred C. Feller, Dr. med. Maximilian Gebhard und Frau Katharina Vogel des Instituts für Pathologie für die Unterstützung und die Mitbenutzung ihrer Geräte und Räumlichkeiten. Des Weiteren danke ich Dr. med. Florian Bähr für die Einweisung und die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes zum Mikroskopieren und zur Auswertung im Institut für Anatomie.

Zum Schluss möchte ich meiner Familie danken, die mich neben diesem äußerst spannenden Abschnitt meiner akademischen Laufbahn auch in allen weiteren Bereichen des Lebens sowohl finanziell als auch mental immer unterstützt hat.

12 Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN

BENEDIKT BECKER

Student der Humanmedizin

Universität zu Lübeck Fachsemester: 11

Geburtstag: 26.04.1989



DISSERTATION

Seit 04/12 Promotionsstudent (Doktorand) an der Universität zu Lübeck

Thema: Beurteilung der Biokompatibilität unterschiedlicher

Silikonprothesen unter spezieller Betrachtung der

antiinflammatorischen Wirkung verschiedener Beschichtungen im

Tiermodell

Stipendium: Promotionsstipendium "Exzellenzmedizin" der Universität zu

Lübeck

TÄTIGKEITEN

04/13 – 04/14 Hilfsassistent der Universität zu Lübeck

Trainings- und Übungszentrum für ärztliche Fertigkeiten und

Techniken

10/12 – 04/13 Hilfsassistent der Universität zu Lübeck

Aufnahme der Vorlesungen

10/10 – 03/11 Hilfsassistent für Neuroanatomie

Justus-Liebig-Universität Gießen

AUSBILDUNG

Seit 04/11 Studium Humanmedizin

Universität zu Lübeck

04/09 – 04/11 Studium Humanmedizin

Justus-Liebig-Universität Gießen

10/99 – 07/08 Bilinguales Abitur, Deutsch-Englisch

Note: 1,6

Gymnasium Hochrad, Hamburg

07/05 – 07/06 Auslandsaufenthalt in Nebraska, USA

High School Abschluss

VERÖFFENTLICHUNGEN UND PRÄSENTATIONEN

- Bergmann PA, **Becker B**, Mauss KL, Liodaki ME, Knobloch J, Mailänder P, Siemers F.

 Titanium-coated polypropylene mesh (TiLoop Bra®)—an effective prevention for capsular contracture? European Journal of Plastic Surgery, 2014. 37(6): p. 339-346.
- Bergmann PA, Tamouridis G, Lohmeyer JA, Mauss KL, **Becker B**, Knobloch J, Mailänder P, Siemers F.

The effect of a bacterial contamination on the formation of capsular contracture with polyurethane breast implants in comparison with textured silicone implants: An animal study. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2014.

- Bergmann PA, **Becker B**, Liodaki E, Mauss KL, Mailänder P, Siemers F *Möglichkeiten der Reduktion der Kapselfibrose durch TiLoopBra®– eine tierexperimentelle Studie.* Vortrag auf der XIII. Frühjahrsakademie der VDÄPC,

 Kassel 8-10- Mai 2013

 Publiziertes Abstract in Handchir Mikrochir Plast Chir 2013; 45: 1–9, DOI:

 10.1055/s-0033-1341614
- **Becker B**, Bergmann PA, Liodaki ME, Knobloch J, Mailänder P, Siemers F. *Tierexperimentelle Untersuchungen zur Kapselfibrose bei Silikonimplantaten Vorteile neuer Implantatoberflächen*, Postervorstellung, Doktorandentag Unviersität zu Lübeck 2013
- **Becker B**, Bergmann PA, Liodaki ME, Knobloch J, Mailänder P, Siemers F. *Tierexperimentelle Untersuchungen zur Kapselfibrose bei Silikonimplantaten-Vorteile neuer Implantatoberflächen*, Postervorstellung, 190. Tagung der Vereinigung Nordwestdeutscher Chirurgen, Hamburg 2012
- **Becker B**, Bergmann PA, Knobloch J, Mailänder P, Siemers F. *Brustimplantate Fluch oder Segen?*, Postervorstellung, Doktorandentag

 Universität zu Lübeck 2012