

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Fakultät für Medizin

Abteilung und Poliklinik für Sportorthopädie

am Klinikum rechts der Isar

(Univ. - Prof. Dr. A. B. Imhoff)

**Verbesserung der Sehnenheilung durch Wachstumsfaktoren  
nach induzierter M. supraspinatus - Ruptur am Rattenmodell -  
Vergleich verschiedener Applikationsformen**

Henriette Hoppe

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin  
der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines  
Doktors der Medizin  
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender:	Univ. - Prof. Dr. E.J. Rummeny
Prüfer der Dissertation:	1. Univ. - Prof. Dr. A. B. Imhoff
	2. apl. Prof. Dr. S. Hinterwimmer
	3. Univ. - Prof. Dr. R. von Eisenhart - Rothe

Die Dissertation wurde am 25.06.2013 bei der Technischen Universität München eingereicht  
und durch die Fakultät für Medizin am 29.01.2014 angenommen.

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>1 - 3</b>
<b>1. Einleitung</b>	<b>4 - 7</b>
<b>2. Theoretische Grundlagen</b>	<b>7 - 24</b>
2.1 Funktionelle Anatomie der Rotatorenmanschette	7 - 9
2.2 Pathoanatomie der Rotatorenmanschette	9 - 15
2.3 Behandlungsmöglichkeiten der Rotatorenmanschettenruptur	15 - 20
2.4 Anatomischer Vergleich: Mensch und Ratte	20 - 21
2.5 Wundheilung durch Wachstumsfaktoren	22 - 24
<b>3. Material und Methoden</b>	<b>25 - 42</b>
3.1 Behandlung der Tiere	25 - 28
3.2 Muskel - / Sehnendegeneration bei Supraspinatussehnenruptur (Phase I)	28 - 34
- 3.2.1 Operatives Procedere	28 - 30
- 3.2.2 Datengewinnung und - auswertung	31 - 34
3.3 Pumpenapplikation von Wachstumsfaktoren (Phase II)	35 - 42
- 3.3.1 Operatives Procedere	35 - 41
- 3.3.2 Datengewinnung und - auswertung	42
<b>4. Ergebnisse</b>	<b>42 - 63</b>
4.1 Phase I	42 - 53
- 4.1.1 Makroskopische Auswertung	43 - 45
- 4.1.2 Histologische Auswertung	46 - 53
4.2 Phase II	53 - 62
- 4.2.1 Makroskopische Auswertung	53 - 54
- 4.2.2 Histologische Auswertung	54 - 62
4.3. Zusammenfassung der Ergebnisse	63
<b>5. Diskussion</b>	<b>64 - 79</b>
5.1 Diskussion der Phase I	64 - 68

5.2 Diskussion der Phase II	69 - 75
- 5.2.1 Andere Methoden zur Verbesserung der Sehnenheilung in der Literatur	69 - 72
- 5.2.2 Wachstumsfaktorenapplikation zur Verbesserung der Sehnenheilung in der Literatur	73 - 75
5.3 Versuchsaufbau	76 - 79
<b>6. Zusammenfassung</b>	<b>80 - 83</b>
<b>7. Ausblick</b>	<b>83 - 84</b>
<b>8. Literaturverzeichnis</b>	<b>85 - 97</b>
<b>9. Anhang</b>	<b>98 - 100</b>
9.1 Abbildungsverzeichnis	98 - 99
9.2 Tabellenverzeichnis	99 - 100
<b>10. Danksagung</b>	<b>101</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AC - Gelenk	Akromioklavikulargelenk
ACL	Anterior Cruciate Ligament (engl.); Vorderes Kreuzband
ACS	Autologous Conditioned Serum (engl.)
b - FGF	Basic - Fibroblast Growth Factor (engl.)
BSA	Bovine Serum Albumin (engl.); Rinderserumalbumin (Stammlösung)
bzw.	Beziehungsweise
C	Zum Plexus cervicalis gehörend, (bestehend aus C1- C4)
CA, USA	California, United States of America (engl.)
ca.	Circa (lat.)
CFU	Colony Forming Unit (engl.)
cm	Zentimeter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
Dr. med.	Doktor der Medizin
Dr. med. vet.	Doktor der Tiermedizin
et al.	Et alii (lat.)
e. V.	Eingetragener Verein
Fa.	Firma
g	Gramm
G - CSF	Granulocyte - Colony Stimulating Factor (engl.)
ggf.	Gegebenenfalls
GJA®	Graftjacket Matrix (engl.)
h	Hour (engl.); Stunde
H. E.	Hämatoxylin - Eosin - Färbung
HPF	High Power Field (engl.); Hauptgesichtsfeld
IGF	Insulin - like Growth Factor (engl.); Insulinähnlicher Wachstumsfaktor
i. m.	Intramuskulär
ISP	M. infraspinatus
i. v.	Intravenös
K	Kontrolle
kD	Kilodalton

kg	Kilogramm
l	Liter
Lig.	Ligamentum (lat.)
Lsg.	Lösung
Ltd.	Limited (engl.)
M	Median
M.	Musculus (lat.)
MCL	Medial collateral ligament (engl.); mediales Kollateralband
mg	Milligramm
µg	Mikrogramm
min	Minute
µl	Mikroliter
mM	mmol / Liter (Stoffmengenkonzentration)
mm	Millimeter
µm	Mikrometer
MMF	Medetomidin, Midazolam, Fentanyl
MRT	Magnetresonanztomographie
MSC	Mesenchymal stem cells (engl.); mesenchymale Stammzellen
N°	Nummernzeichen
N.	Nervus (lat.)
NA	Not applicable (engl.); entfällt
NJ, USA	New Jersey, United States of America (engl.)
No.	Number (engl.); Nummer
Nr.	Nummer
OP	Operation
p	P - Wert
PAS	Periodic acid - Schiff - reaction (engl.)
PBS	Phosphate - buffered saline (engl.); Phosphatgepufferte Salzlösung
PD	Privatdozent
PDGF	Platelet - derived Growth Factor (engl.)
pH	pH - Wert
p. o.	Per os (lat.)
PRP	Platelet Rich Plasma (engl.); plättchenreiches Plasma

PTFE	Polytetrafluorethylen
pts.	Points (engl.); Punkte (im MOVIN-Score)
RM	Rotatorenmanschette
Rpt.	Ruptur
s.	Siehe
s. c.	Subkutan
SD	Standard Deviation (engl.); Standardabweichung
SPF	Spezifiziert keimfrei
SSC	M. subscapularis
SSP	M. supraspinatus
STAT - Proteine	Signal Transducers and Activators of Transcription (engl.)
syn.	Synonym
TGF - $\beta$	Transforming Growth Factor - beta (engl.)
Th	Bestandteil des Truncus inferior des Plexus brachialis (C5 - Th1)
TV	Tierversuch
u. a.	Unter anderem
UCLA	University of California, Los Angeles (engl.)
UK	United Kingdom
Univ. - Prof.	Universitätsprofessor
v. a.	Vor allem
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor (engl.)
z. B.	Zum Beispiel
ZHS	Zentraler Hochschulsport München
ZPF	Zentrum für Präklinische Forschung, TU München, Rechts der Isar
z. T.	Zum Teil
°	Grad
>	Größer; älter als
<	Kleiner; jünger als
§	Paragraph
%	Prozent
®	Registered Trade Mark (engl.)

## 1. Einleitung

Schulterverletzungen nehmen einen großen Platz im orthopädischen Krankengut ein, insbesondere ältere Patienten und Sportler klagen über Schmerzen und Funktionseinschränkungen der Schulter.<sup>167</sup> Die häufigste Ursache dafür sind, neben der Schulterinstabilität, Rupturen der Rotatorenmanschette, welche durch traumatische Ereignisse oder degenerative Sehnenveränderungen entstehen können.<sup>46</sup>

Prädisponierend für Schulterverletzungen ist die Anatomie des Schultergelenkes. Die kleine Kontaktfläche der Gelenkkörper und die überwiegende Weichteilführung durch die Rotatorenmanschette ermöglichen eine große Bewegungsfreiheit, sind aber gleichzeitig bei längerfristiger starker Beanspruchung besonders verletzungsanfällig.

So stellen Rotatorenmanschettenläsionen die häufigste Ursache für Schmerzen und Kraftverlust der Schulter dar und finden sich bei etwa 50 % der Bevölkerung.<sup>46,62</sup>

Sie können zwar traumatische Erstverletzungen sein, meistens entstehen sie jedoch aufgrund wiederholter Mikrotraumata.<sup>76</sup> Viele Patienten jenseits des 50. Lebensjahres weisen diese Abnutzungserscheinungen der Sehnenplatten auf, die im Laufe der Jahre schließlich zu partiellen oder kompletten Rotatorenmanschettenrupturen führen können.

Verstärken sich die Beschwerden oder zeigt sich beim Patienten ein hochgradiger Funktionsverlust, so ist die Therapie der Wahl eine operative Rekonstruktion in arthroskopischer oder Mini - open - Technik, welche klinische Erfolgsraten von bis zu 85 % zeigen.<sup>116</sup>

Da Rotatorenmanschettendefekte häufig kompensiert und somit asymptomatisch sind, erfolgt die operative Versorgung meist erst im fortgeschrittenen Stadium.

Dabei stellt sich das biologische Problem, dass intrinsische Veränderungen, sowie schlechte Durchblutungsverhältnisse und in ihrer Folge die Degeneration des Sehngewebes, das Heilungspotential der Sehne verschlechtern.

Dies wiederum führt zu schlechteren postoperativen Ergebnissen mit z. T. hohen Rerupturraten, da operativ eine höhere Spannung notwendig ist, um die Ruptur decken zu können und gleichzeitig die degenerativ veränderte Sehne des älteren Patienten kein hinreichendes Heilungspotential besitzt.<sup>116</sup>

So beobachteten zahlreiche Studien, dass trotz stabiler Fixation eine hohe Rerupturrate von 23 - 68 % nach Rekonstruktionen zu verzeichnen ist und damit stellt insbesondere die Reduktion der Rerupturrate ein wichtiges Thema in der Schulterchirurgie dar.

27,49,50,51,56,58,59,68,87,88,89,130,131,146,166,168

Wie Veröffentlichungen zeigen, wird das postoperative Ergebnis nach Rotatorenmanschettenrekonstruktion von mehreren Faktoren beeinflusst:

Vor allem Alter und Sehnenqualität des Patienten spielen eine entscheidende Rolle für das klinische Ergebnis. Gerade ältere Patienten weisen nach Imhoff et al. ein vermindertes Heilungspotential durch Rotatorenmanschettentendinose oder assoziierte Osteoporose des Tuberculum majus auf.<sup>76,77</sup>

Weitere Gründe für ein schlechtes Heilen stellen Überbeanspruchung, schlechte Vaskularität, Geschlecht sowie endokrine und metabolische Faktoren dar.<sup>90,91</sup>

So bestimmen den postoperativen Heilungsverlauf zum einen die Reduktion der Muskelmasse und fettige Infiltration von Sehne und Muskel, zum anderen die Defektgröße und die primäre Stabilität der Fixierung.

Des Weiteren sind die späte klinische Symptomatik und der damit verzögerte Operationszeitpunkt der chronischen Rotatorenmanschettenläsion Ursachen für schlechtere Heilungsbedingungen im Vergleich zur zeitnah operierten akuten Ruptur.<sup>76,77</sup>

Gerade die Optimierung der Heilung von chronischen Läsionen gewinnt zunehmende Bedeutung, denn Studien zeigen, dass ein wesentlicher Unterschied im operativen Outcome und Heilungsverlauf von akuten und chronischen Läsionen zu verzeichnen ist.<sup>152</sup>

Daran lässt sich erkennen, dass ein alleiniges operatives Vorgehen bei der chronischen Läsion bisher noch nicht die größtmögliche Erfolgsrate garantiert, das Sehnenheilungsverhalten noch suboptimal bleibt und der erfahrene Schulterchirurg mit der Frage konfrontiert wird, welche Faktoren Einfluss auf ein schlechteres klinisches Ergebnis besitzen.<sup>49,50,51</sup>

Zumal heutzutage der postoperative Anspruch, wie u. a. hohe Leistungsfähigkeit, auch beim älteren Patienten zunimmt und gute Langzeitergebnisse nach Rotatorenmanschettenrekonstruktionen erforderlich macht.

Auch wenn bereits eine Vielzahl von Studien über den Heilungsverlauf nach Rotatorenmanschettenrekonstruktion existieren, stehen Untersuchungen, welche mit Wachstumsfaktoren diesen positiv beeinflussen, noch in ihren Anfängen.

In der Literatur werden verschiedene biologische Augmentationsmethoden zur in-vivo Heilung der Rotatorenmanschette aufgezeigt. Neben der Applikation von Stammzellen oder lokaler Gabe verschiedener Wachstumsfaktoren liegen Untersuchungen zu autologen Methoden, z. B. Platelet Rich Plasma, vor.<sup>5,85,103</sup>

Im Vordergrund dieser Studie sollen Wachstumsfaktoren stehen, dabei sollen folgende herangezogen werden, welche laut Literatur während des Wundheilungsprozesses die Geweberegeneration und das Heilungsverhalten positiv beeinflussen und im klinischen Alltag genutzt werden können.<sup>90,91,103,133</sup>

- B - FGF: Basic - Fibroblast Growth Factor
- G - CSF: Granulocyte - Colony Stimulating Factor

B - FGF unterstützt vor allem die Zellproliferation und - migration und fördert die Kollagen - III - Produktion und - Expression sowie die Angiogenese.<sup>30,31,147,158</sup>

Auch G - CSF ist für seine Förderung von Gefäßwachstum und Zellproliferation von Stammzellen bekannt.<sup>16</sup>

Somit erwarten wir, dass die genannten Wachstumsfaktoren in dieser Studie die gewünschte verbesserte Einheilung der induziert rupturierten Supraspinatussehne bewirken.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, zum einen in der ersten Studienphase mittels verschiedener Zeitpunkte nach Absetzen der Sehne die humane chronische Rotatorenmanschettenläsion im Tiermodell zu simulieren.

Dafür setzen wir die Supraspinatussehne der Ratte operativ ab und beurteilen sie histologisch vergleichend mit der Kontrollgruppe in ihrem zeitlichen Verlauf.

Als erste Hypothese wird angenommen, dass zu einem der gewählten Zeitpunkte eine vergleichbare histologische Situation zur chronischen Rotatorenmanschettenläsion des Menschen vorliegt, und dass dieser Zeitpunkt im Tiermodell für die chronische Rotatorenmanschettenläsion verwendet werden kann.

Für die zweite Phase der Studie wird der evaluierte Zeitpunkt aus Phase I als Ausgangslage für eine chronische Supraspinatusläsion herangezogen und die Behandlung von Supraspinatusläsionen mittels transossärer Refixation und kontinuierlicher Applikation von Wachstumsfaktoren über 20 Tage via Osmosepumpen untersucht.

Als zweite Hypothese wird angenommen, dass hierdurch histologisch ein verbessertes Remodelling der Sehne erzielt wird.

Als dritte Hypothese werden synergistische Effekte bei Kombination beider Wachstumsfaktoren erwartet.

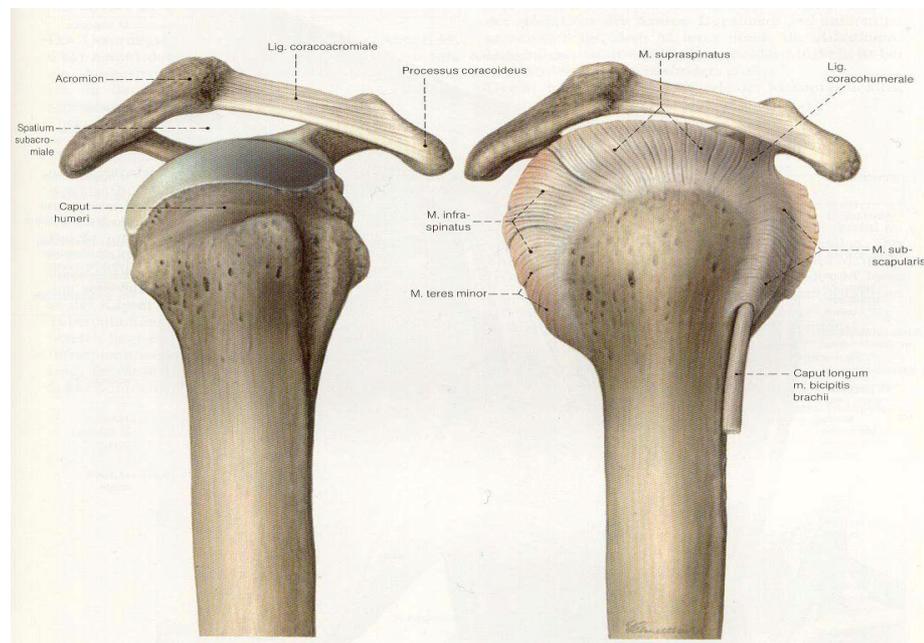
Zusammenfassend soll die vorliegende experimentelle Studie ein Tiermodell etablieren und die Auswirkung einer wachstumsfaktorgestützten Therapie der Sehneneinheilung

untersuchen. Zugleich sollen die Ergebnisse als Grundlage für weitere Untersuchungen unterschiedlicher Applikationsformen von Wachstumsfaktoren dienen.

## 2. Theoretische Grundlagen

### 2.1 Funktionelle Anatomie der Rotatorenmanschette

Als Rotatorenmanschette wird die vierteilige Muskelgruppe des Schultergelenks bezeichnet, die an der Scapula ihren Ursprung hat und unterhalb des coracoacromialen Bogens (Spatium coracoacromiale) als breite Sehnenplatte zum Humeruskopf zieht. Die Sehnen der vier Muskeln, M. subscapularis (ventral), M. supraspinatus (kranial), M. infraspinatus und M. teres minor (dorsal) umgreifen manschettenförmig den Humeruskopf (s. Abbildung 1).<sup>14</sup> Neben der willkürlichen Schulterbewegung ist die Rotatorenmanschette ebenso für die Zentrierung der Schulter gegen von außen einwirkende Kräfte verantwortlich.



**Abbildung 1:** Rechte Schulter von lateral, nach Entfernung des M. deltoideus und der Oberarmbeuger (Rauber / Kopsch, Band I: Bewegungsapparat)<sup>121</sup>

Der M. subscapularis entspringt an der Fossa subscapularis der ventralen Scapula, inseriert am Tuberculum minus und ist eng mit der anterioren Schulterkapsel verbunden. Er übernimmt hauptsächlich die Funktion der Innenrotation, ist aber auch an der Abduktion (kranialer Anteil) und an der Adduktion (kaudaler Anteil) beteiligt. Seine Innervation erfolgt durch den oberen und unteren Ast des N. subscapularis aus dem Plexus brachialis (C5 - Th1). Das Dach des glenohumeralen Gelenkes bildet der M. supraspinatus. Er entspringt der Fossa supraspinata und verläuft unter dem coracoacromialen Bogen zum Tuberculum majus. Innerviert wird der M. supraspinatus durch den N. suprascapularis (C4 - C6) aus dem Plexus brachialis. Im Schultergelenk ermöglicht er eine Abduktion bzw. Außenrotation. Er zieht über die Gelenkkapsel und bewirkt eine Zentrierung des Humeruskopfes in der Cavitas glenoidalis.

Der M. infraspinatus entspringt von der dorsalen Fläche der Scapula, zieht zum dorsalen Tuberculum majus und wird, wie der M. supraspinatus, vom N. suprascapularis innerviert. Aus seiner kräftigen Sehne strahlen Fasern in die posteriore Kapsel und stellen analog zum M. subscapularis eine enge Beziehung zur Kapsel her. Der M. infraspinatus ist der wichtigste Außenrotator im Schultergelenk.

Von der lateralen Kante der Scapula, der Margo lateralis, entspringt der M. teres minor, der ebenfalls dorsal am Tuberculum majus unterhalb des M. infraspinatus inseriert und durch den N. axillaris (C5 - C6) innerviert wird. Seine Funktion liegt in der Außenrotation und Adduktion im Schultergelenk. Zudem bildet er für die mediale und laterale Achsellücke jeweils die obere Begrenzung.<sup>14</sup>

Vom Rotatorenintervall ausgehend, zieht zum Unterrand des M. infraspinatus das „rotator cable“. Es stellt eine halbmondförmige Verdickung der Rotatorenmanschette dar und ist für die Kraftübertragung des posterior - superioren Manschettenanteils auf das Tuberculum majus zuständig, wobei die „suspension bridge“ die Ansätze von M. supra - und infraspinatus anspannt.<sup>12,79</sup> Dadurch dass die einwirkenden Kräfte primär auf das „rotator cable“ einwirken und verteilt werden, wird die Absolutkrafteinwirkung auf das dünnere, lateral angrenzende Manschettengewebe („crescent zone“) reduziert.

Umfasst wird die Rotatorenmanschette schließlich vom M. deltoideus, der zwar nicht der Manschette angehört, dieser aber kappenartig aufliegt.

Innerhalb des Schultergelenks entspringt die lange Bizepssehne am Tuberculum supraglenoidale und setzt an der Tuberositas radii sowie über die Aponeurosis musclic bicipitis an der Unterarmfaszie an. Die lange Sehne des M. biceps brachii wird intraartikulär

in der Rotatorenintervallschlinge (syn. Bizepssehnen - Pulley) eingefangen und in den Sulcus intertubercularis eingeführt. Sie verläuft im Schultergelenk horizontal und biegt im Rotatorenintervall scharf ab, um dann in senkrechtem Verlauf, durch den Sulcus intertubercularis, den Oberarm zu erreichen.

Die Pulley - Schlinge ist ihrerseits eng mit den Sehnen des M. supraspinatus und des M. suprascapularis verwoben. Die lange Bizepssehne nimmt im Glenohumeralgelenk, v. a. die Funktion der passiven Stabilisation vor, besonders in Abduktion und Außenrotation.

Zwischen Rotatorenmanschette (kaudal) und Acromion (kranial) befindet sich die Bursa subacromialis. Nach ventral reicht diese bis zum Lig. coracoacromiale, dorsalwärts bis zur Fossa infraspinata der Scapula. Die flächige Sehne des M. supraspinatus liegt direkt unter der Bursa, die als Gleitlager fungiert, sodass bei Rotatorenmanschettenläsionen eine Verbindung zum Glenohumeralgelenk entsteht.

## **2.2 Pathoanatomie der Rotatorenmanschette**

Die Rotatorenmanschette ist Bestandteil des Schultergelenks, welches sich aus vier Gelenken zusammensetzt.

Im Zentrum steht das Glenohumeralgelenk, die Artikulation des Humeruskopfes mit der Scapula.<sup>4</sup> Die Cavitas glenoidalis ist die flache Gelenkpfanne am äußeren Schulterblattwinkel, deren Auflagefläche durch das Labrum glenoidale vergrößert wird. Das Acromioclaviculargelenk, das Sternoclaviculargelenk und die Verschiebeschicht zwischen Thoraxwand und hinterer Scapula sind weitere Teilgelenke, die die Mobilität des Schultergelenkes ermöglichen.<sup>14,78</sup>

Das Glenohumeralgelenk besitzt als typisches Kugelgelenk drei Freiheitsgrade und stellt in Kombination mit den oben genannten Gelenken das beweglichste Gelenk des Körpers dar.

Aufgrund ihrer außergewöhnlichen Beweglichkeit besitzt die Schulter damit auch zahlreiche anatomische und funktionelle Besonderheiten, welche die Pathogenese von Schulterschmerzen sowie eine Anfälligkeit für Luxationen und Instabilitäten bedingen.<sup>61</sup>

Im Vordergrund steht, dass die knöchernen Strukturen nur wenig zur Stabilisierung beitragen und somit der muskulären Führung eine besondere Bedeutung zukommt.<sup>153</sup> Denn der halbkugelförmige Humeruskopf artikuliert in einem Missverhältnis von 4 : 1 mit der flachen und kleinen Gelenkpfanne der Scapula, sodass die Weichteilführung zur Sicherung des

Gelenkes besonders bedeutsam ist. Die Vereinigung der rotatorisch wirkenden Muskeln zur Rotatorenmanschette am Humeruskopf macht diesen maximalen gesicherten Bewegungsumfang möglich.<sup>78</sup> Des Weiteren ist die Gelenkkapsel des Schultergelenks weit und schlaff, um die enorme Beweglichkeit des Gelenkes möglichst widerstandslos zu gewährleisten.

Unterschieden wird zum einen in die statischen Stabilisatoren des Glenohumeralgelenks, wie der knöchernen Konfiguration von Glenoid und Humerus, dem Labrum glenoidale, der Gelenkkapsel und dem Bandapparat. Zum anderen spricht man von den dynamischen Stabilisatoren, zu denen die Rotatorenmanschette, die lange Bizepssehne und der M. deltoideus gehören.<sup>61,162</sup>

Eine weitere wichtige Besonderheit stellt die relative Enge des subacromialen Gleitraumes dar, die eine Prädisposition für mechanische oder hypoxische Läsionen durch „extrinsisches Impingement“ der dort verlaufenden Sehnen darstellt, so insbesondere auch für den M. supraspinatus.<sup>77</sup>

Der intraartikuläre Verlauf der langen Bizepssehne stellt schließlich eine weitere Besonderheit dar, deren Pathologien, wie Instabilitäten und Rupturen, häufig mit Läsionen der Rotatorenmanschette einhergehen. Bei gleichzeitigem Vorliegen eines Rotatorenmanschettendefekts verstärkt sich die Vorspannung der langen Bizepssehne und sie nimmt eine Funktion als Humeruskopfdepressor ein.<sup>66</sup>

### **Inzidenz und Ätiologie der Rotatorenmanschettenruptur**

Unter einer Rotatorenmanschettenruptur versteht man die Kontinuitätsunterbrechung der Sehne oder des Muskels der Rotatorenmanschette.

Rotatorenmanschettenläsionen stellen eine häufige Pathologie im orthopädischen Behandlungsspektrum dar. Jedoch wird, aufgrund asymptomatischer Verläufe, die Prävalenz höher eingeschätzt als die tatsächliche Inzidenz in der klinischen Praxis. In der Literatur finden sich verschiedene Angaben, die je nach Alter der Patienten schwanken, da das Alter in Bezug auf die Epidemiologie und Größe des Defekts eine entscheidende Rolle spielt.

Das Durchschnittsalter zum Operationszeitpunkt von Rotatorenmanschettenläsionen beträgt 55 Jahre, wobei Männer wesentlich häufiger betroffen sind als Frauen.<sup>156</sup>

So werden nach Gohlke und Hedtmann bei 60jährigen Patienten 10 - 30% Komplettrupturen beschrieben, wobei der M. supraspinatus sowohl bei den Partial - wie auch Komplettrupturen

am häufigsten betroffen ist.<sup>61</sup>

Walch et al. und Uhthoff et al. finden in ihren Studien Inzidenzen von Totalrupturen bei 12,9 % und 20 %.<sup>156,154</sup>

Aufgrund degenerativer Prozesse wird in mehr als der Hälfte der Fälle von atraumatischen Läsionen ausgegangen. Doch auch eine Schulterluxation kann bei über 40jährigen Patienten in 40 - 70 % der Fälle eine Rotatorenmanschettenruptur bedingen und im klinischen Alltag oft übersehen werden.<sup>66,67</sup>

Angaben über die Häufigkeit von Rotatorenmanschettenrupturen weisen somit eine hohe Schwankungsbreite auf, dabei lässt sich jedoch in autoptischen Untersuchungen eine Zunahme der Rupturen mit steigendem Alter beobachten (s. Tabelle 1).

Kadaverstudien zeigten nur bei 17 % der < 39 - Jährigen Sehnenveränderungen der Rotatorenmanschette, während diese im Altersverlauf weiterhin zunahmen (40 % der 50 - Jährigen; 57 % der > 90 - Jährigen).<sup>32</sup>

Dabei treten Rupturen gewöhnlich in der kritischen Zone 1 - 2 cm von der Insertion entfernt auf, da sich dort mehr Degenerationsveränderungen finden.<sup>32,76,92,93,132</sup>

Bleibt das „rotator cable“ bestehen, kann die Rotatorenmanschettenläsion beschwerdefrei verlaufen und man spricht von einem nicht - funktionellen Riss.

Alter	Häufigkeit
< 40 Jahre	keine partielle / komplette Rpt.
< 50 Jahre	5 % partielle / komplette Rpt.
< 60 Jahre	11 % partielle / komplette Rpt.
> 70 Jahre	50 % partielle / komplette Rpt.
> 80 Jahre	80 % partielle / komplette Rpt.

**Tabelle 1:** Sonographische altersbezogene Prävalenz der Rotatorenmanschettenruptur (Quelle: Habermeyer P, Agneskirchner JD. Schulterchirurgie, Seite 335)<sup>67</sup>

Die klinische Symptomatik bei degenerativer Ausgangssituation tritt häufig erst durch ein akutes, meist inadäquates, Trauma auf, welches einen Reizzustand der Schulter initiiert, möglicherweise einen vorliegenden Defekt vergrößert, und somit eine Dekompensation der Schulterfunktion verursacht.

Dabei kann das Ausmaß der Rupturen von kleinen Rissen in den oberflächlichen Schichten

bis zur Massenruptur (Humeruskopfglatze), mit oder ohne Beteiligung von Bizepssehne oder Rotatorenintervall, stark variieren. Die Rupturgröße und der Schmerzgrad stehen jedoch in keiner Korrelation zueinander. So sind Partialrupturen häufig schmerzhafter als Massenrupturen.<sup>67</sup>

Da häufig degenerative Vorschäden und nicht ein adäquates Trauma die Ursache für eine Rotatorenmanschettenläsion sind, wird das Unfallereignis nur als Teilursache angesehen.<sup>69</sup>

Nach Imhoff et al. entsteht die endgültige Ruptur auf dem Boden multifaktorieller Genese, beispielsweise durch Durchblutungsstörungen, Belastung, Mikrotraumata oder durch die prädisponierenden anatomischen Eigenschaften des Schultergelenks im Rahmen eines „Impingements“.<sup>76</sup> Bedeutend für die Ätiopathogenese von Rotatorenmanschettenläsionen sind nach Imhoff et al. extrinsische und intrinsische Faktoren:

Zum einen das altersbedingte intrinsische Impingement, bei welchem Sehnengewebe aufgrund von Durchblutungsstörungen, mechanischem Druck oder Einklemmung degeneriert.<sup>76,93</sup>

Diese als intrinsische Faktoren bezeichneten Veränderungen finden sich besonders in der Nähe des M. supraspinatus und beginnen ab dem 40. Lebensjahr. Als primäre Degenerationen in der Sehne selbst, lokalisieren sie sich besonders an der Sehneninsertion.<sup>161</sup> Letztlich führen sie zu einer Abschwächung der „dehnbaren Widerstandskraft“ der Sehne.

Im Gegensatz dazu steht die extrinsische Tendinopathie, bei der eine Enge des subacromialen Raumes, z. B. Acromion Typ III nach Bigliani, AC - Gelenkarthrose, eine Prädisposition für mechanische oder hypoxische Läsionen der dort verlaufenden Sehnen darstellt und diese im Rahmen des „extrinsischen Impingements“ von außen mechanisch irritiert.<sup>17,111</sup> Zumal sich nach Rathbun et al. in minderdurchbluteten Arealen ein stärkeres Fortschreiten der Degeneration beobachten lässt.<sup>120</sup>

Der akute Riss der Rotatorenmanschette äußert sich in starken, später dann abnehmenden Schmerzen, die über den M. deltoideus ausstrahlen. Gleichzeitig ist eine Pseudoparalyse des Armes bei akut traumatischen Rupturen ein häufiges klinisches Zeichen. Eine vollständige Aufhebung der aktiven Abduktionsfähigkeit kann aufgrund der Starterfunktion des M. supraspinatus hinweisend auf eine Supraspinatusbeteiligung sein.

Dahingegen bleiben langsam progrediente degenerative Veränderungen lange asymptomatisch oder zeigen eine milde klinische Symptomatik, bei der eher Nacht - und Bewegungsschmerzen statt Funktionseinschränkungen im Vordergrund stehen.<sup>161</sup>

In nur 5 - 8 % der Fälle liegt eine traumatische Erstverletzung der gesunden Sehne vor, viel

öfter handelt es sich um wiederholte Mikrotraumata.<sup>34,111</sup> Durch eine biomechanisch relevante Ruptur der Rotatorenmanschette verliert diese ihre zentrierende Wirkung, der Deltamuskel erlangt ein Übergewicht und es kommt zur Dezentrierung des Humeruskopfes aus der Gelenkpfanne. Nach Budoff et al. kann das extrinsische Impingement sekundär durch diese „superior migration“ bedingt sein.<sup>24</sup> Das so entstandene sekundäre Impingement führt zu einer funktionellen Dekompensation mit Schmerzen und Bewegungseinschränkungen und kann sich über die Zeit zu einer sekundären Arthrose (Defektarthropathie) entwickeln.

So kann man zusammenfassen, dass intrinsische Faktoren die Degeneration der Supraspinatussehne induzieren und im Zusammenspiel mit weiteren Faktoren, wie anatomischen Varianten oder Traumata, diese fortschreiten lassen und eine Ruptur begünstigen.

Der therapeutischen Intervention kommt damit eine wichtige Rolle zu und die operative Rekonstruktion, in Kombination mit Adjuvantien in Form von Wachstumsfaktoren, soll in unserer Studie näher beleuchtet werden.

### **Einteilung und Klassifikation der Rotatorenmanschettenruptur**

Um ein therapeutisches operatives Vorgehen planen zu können, ist das Staging der Rotatorenmanschettenruptur von entscheidender Bedeutung. Nur eine pathologiekonforme Therapieplanung kann ein optimales Therapieergebnis gewährleisten und beinhaltet neben anamnestischer Abklärung des Funktionsanspruchs eine ausführliche Untersuchung, kombiniert mit geeigneter Bildgebung.<sup>162</sup>

Wichtig ist es, bei der Anamnese die subjektiven Hauptbeschwerden herauszuarbeiten, wie z. B. Ruhe - , Belastungs - oder Nachtschmerz, Lokalisation und Ausdehnung des Schmerzes, Schwäche, Bewegungsgrad, Aktivitätsgrad und bereits erfolgte Therapien.

Das Untersuchungsmodul der Supraspinatussehnenruptur sollte nach dem allgegenwärtigen Schema von Inspektion, Palpation, Beurteilung und der Bestimmung von Funktion, Impingement und Instabilität erfolgen.

Bei der Inspektion sollte auf Symmetrie der Schultern und mögliche Atrophien des M. supraspinatus geachtet und zugleich die Schmerzangaben des Patienten lokalisiert werden.

Nach der Palpation der einzelnen Gelenkpunkte und der anatomischen Orientierungspunkte der Schulter können Bewegungsumfang und skapulothorakaler Rhythmus beurteilt werden.

Auch Impingementzeichen (z. B. Neer, Hawkins, painful arc) sollten abgeklärt werden.<sup>134</sup>

Besonderes Augenmerk muss der Krafttestung aller Anteile der Rotatorenmanschette zukommen und in Hinblick auf den M. supraspinatus sind dies der Starter - Test (aktive Abduktion bei 0° - Abduktion gegen Widerstand) sowie der Jobe - Test (Halten des Armes gegen Druck von kranial bei 90° - Abduktion und 30° - Horizontalflexion mit nach unten weisendem Daumen; positiv bei Schmerz / Kraftverlust).

Eine komplette radiologische Bildgebung der Schulter in drei Ebenen, einschließlich eines axialen Bildes, ist essentiell, um die knöcherne Konfiguration des Acromions, den acromio - humeralen Abstand und die Kopf - Pfannen - Beziehung beurteilen zu können.<sup>134</sup>

Des Weiteren komplettieren Sonographie und MRT die präoperative Diagnostik, um Rupturgröße, Retraktion der Sehne und Muskelqualität zu bewerten.

Die anamnestische Einteilung anhand der Krankheitsdauer ist eng mit der Prognose der jeweiligen Rotatorenmanschettenruptur verbunden (s. Tabelle 2).

<b>Einteilung nach Anamnesedauer</b>	
akut	< 6 Wo
subakut	6 Wo - 6 Mo
chronisch	6 Mo - 1 Jahr
alt	> 1 Jahr

**Tabelle 2:** Klassifizierung der Rotatorenmanschettenruptur nach Anamnesedauer

(Quelle: Habermeyer P, Agneskirchner JD. Schulterchirurgie, Seite 336)<sup>67</sup>

Zusätzlich zur Krankheitsdauer bieten das Ausmaß der Sehnenretraktion, der fettigen Infiltration des Muskels sowie die Muskelatrophie Aufschluss über die Prognose der Rotatorenmanschettenruptur.<sup>64,150</sup>

Eine Rotatorenmanschettenruptur kann sich partiell oder komplett darstellen. Die partielle Läsion kann bursaseitig, intratendinös oder gelenkseitig lokalisiert ein.

Der komplette Einriss wird nach Bateman (s. Tabelle 3) anhand seiner größten Defektbreite am Insertionsort humeralseitig klassifiziert und nach Thomazeau (s. Tabelle 4) anhand der Muskelatrophie im MRT. Die komplette Ruptur kann nur eine Sehne betreffen aber auch zwei oder drei Sehnen, dann spricht man von einer massiven Ruptur. Meistens liegt dann eine totale Ruptur mit Freilegung des Humeruskopfes (Humeruskopfglatze) vor, aus der sich eine Defektarthropathie entwickelt.<sup>67</sup>

<b>Einteilung der kompletten Ruptur</b>	
Grad I - klein	< 1 cm
Grad II - mittel	1 - 3 cm
Grad III - groß	3 - 5 cm
Grad IV - massiv	> 5 cm

**Tabelle 3:** Einteilung der Rotatorenmanschettenruptur nach Bateman

(Quelle: Habermeyer P, Agneskirchner JD. Schulterchirurgie, Seite 336)<sup>67</sup>

<b>Muskelatrophie im MRT</b>	
Grad I	Normaler Muskel / geringe Atrophie, Verhältnis Muskel / Fossa supraspinata zwischen 1,00 und 0,60
Grad II	Mäßige Atrophie, Verhältnis Muskel / Fossa supraspinata zwischen 0,60 und 0,40
Grad III	Starke Atrophie, Verhältnis Muskel / Fossa supraspinata < 0,40

**Tabelle 4:** Einteilung der Rotatorenmanschettenruptur nach Thomazeau

(Quelle: Habermeyer P, Agneskirchner JD. Schulterchirurgie, Seite 337)<sup>67</sup>

### 2.3 Behandlungsmöglichkeiten der Rotatorenmanschettenruptur

Die Therapie der Rotatorenmanschettenruptur setzt sich zum Ziel, eine schmerzfreie / - arme Funktion wiederherzustellen und dabei den Funktionsansprüchen des Patienten gerecht zu werden. Im Vordergrund steht, neben der Schmerzfreiheit, die optimale Zentrierung des Glenohumeralgelenks und damit die Verbesserung der Biomechanik.

Als Herangehensweise bietet sich die konservative oder die operative Therapie an. Entscheidend für die Wahl des Therapiekonzeptes sind das Alter und die Komorbiditäten des Patienten, sowie der Schmerzgrad und Funktionsanspruch.

## **Konservative Behandlung**

Bei einer symptomatischen Rotatorenmanschettenruptur ist in den meisten Fällen primär eine konservative Behandlung für drei Monate indiziert.<sup>67</sup>

### **Phase 1: Wiederherstellung der Schmerzfreiheit**

In der ersten Phase ist die primäre Zielsetzung, das Bewegungsausmaß zu normalisieren und schmerzfrei zu gestalten. Zum einen durch passive Bewegungsübungen und manuelle Therapie, zum anderen durch analgetische und antiphlogistische Medikation.

### **Phase 2: Wiederherstellung des biomechanisch - muskulären Gleichgewichts von Humerus und Skapula**

Im Anschluss folgt die zweite Phase mit muskulärer Koordination, Kräftigung und Zentrierung des Humeruskopfes durch skapulothorakale Schulung.

### **Phase 3: Rückführung in die Alltagsbelastung**

In der dritten Phase wird der Patient durch langsame Belastungssteigerung in der Ergotherapie und medizinischen Trainingstherapie an seine alltäglichen Bewegungsabläufe herangeführt.

Bei zunehmendem Funktionsanspruch, insbesondere bei jüngeren oder sportlich aktiven Patienten, steht das operative Vorgehen im Vordergrund der Therapiemöglichkeiten. Denn dem Erfolg der konservativen Therapie sind Grenzen gesetzt, da durch Physiotherapie die Funktion zwar kompensiert werden kann, es aber zu keiner Heilung kommt. Diese kompensierte Funktion der Schultermuskulatur reicht jedoch für Patienten mit hohem funktionellen Anspruch nicht aus.

## **Operative Behandlung**

Die moderne Rotatorenmanschetten - Chirurgie ist nach Boszotta et al. Ergebnis Entwicklungsprozesses der letzten zwei Jahrzehnte.<sup>19</sup> Dennoch blickt sie auf eine Geschichte zurück, die bis ins 19. Jahrhundert reicht.

So finden sich 1834 erste Beschreibungen der Supraspinatusruptur vom Anatomen Smith, die

er anhand von Schulterpräparaten dokumentierte.<sup>141</sup> Franz Freiherr von Pitha, Ordinarius für Chirurgie in Prag, beschrieb als erster in der deutschsprachigen Fachliteratur Rotatorenmanschettenläsionen nach Schulterluxationen.<sup>82</sup>

1898 führte W. Müller die erste operative Versorgung einer Rotatorenmanschettenruptur durch und schilderte die operative Vernähung des M. supraspinatus beim Chirurgenkongress zu Berlin.<sup>108</sup>

In der neueren Zeit etablierte 1972 Charles Neer, welcher bereits in früheren Studien das Impingement - Syndrom als eine der wichtigsten Ursachen für die Supraspinatusruptur erkannte, das erste Verfahren der offenen Akromioplastik zur Erweiterung des subacromialen Raumes.<sup>111</sup>

Die Weiterentwicklung zu dieser, anschließend als Standardverfahren geltenden Technik, vollzog Harvard Ellman.<sup>43</sup> Mit ihm begann 1983 die Ära der arthroskopischen Akromioplastik, welche sich im Laufe der Jahre immer mehr durchsetzte und die Grundlage für die heutige arthroskopische Therapie darstellt.

Im Vordergrund aller Operationsverfahren steht, die Biomechanik des Schultergürtels nicht zu verändern und die Sehnen möglichst anatomisch zu rekonstruieren, um dadurch ein biologisches Anheilen der Sehne zu ermöglichen. Ziel ist die Erlangung von Schmerzfreiheit, sowie die Normalisierung von Bewegungsabläufen, Kraft und Funktion.

Für das postoperative Outcome der akuten Ruptur ist der ideale Operationszeitpunkt von entscheidender Bedeutung.<sup>11</sup> Dem entsprechend sollte nach Cofield et al. der frische traumatische Defekt des < 50jährigen Patienten innerhalb der ersten drei Wochen, der des > 50jährigen Patienten frühestens nach sechs Wochen operativ versorgt werden.<sup>34</sup> Denn fortgeschrittene Muskelatrophie, Vernarbung, Verfettung oder die Retraktion der Rupturränder führen zu einem erheblich schlechteren Outcome.<sup>131</sup> Ein weiterer wichtiger Prognosefaktor der Rerupturrate ist die spannungsfreie Rekonstruktion der Manschette. Grundvoraussetzung vor jeder Operation ist weiterhin die freie Beweglichkeit des Glenohumeralgelenks.<sup>66</sup>

Bei der chronisch - degenerativen Ruptur spielt jedoch nicht der Operationszeitpunkt die wichtigste Rolle, sondern die Ausdehnung der Läsion beeinflusst maßgeblich das postoperative Outcome.

Zur Auswahl der operativen Therapie der Rotatorenmanschettenruptur stehen drei Verfahren, die:

- Klassische offene Operation
- Mini - open - Operationstechnik
- Arthroskopische Operationstechnik

### **Klassische offene Operation**

Die klassische offene Operationstechnik galt lange Zeit als der „Goldstandard“ der Rotatorenmanschetten - Chirurgie. Doch sie ist heutzutage fast vollkommen von der Mini - open - und arthroskopischen Technik abgelöst worden und nur noch in Ausnahmefällen indiziert. Beispielsweise, wenn das Ausmaß der Läsion oder die Retraktion der Sehnenstümpfe durch minimal - invasive Verfahren nicht gedeckt werden können, sowie in komplexen Revisionsfällen.

Es erfolgt in der Regel ein anterolateraler, transdeltoidaler Zugang, über welchen die Rotatorenmanschette dargestellt wird. Im Anschluss erfolgt die offene vordere Acromioplastik und Resektion des Lig. coracoacromiale. Bedarfsweise kann zusätzlich die laterale Clavicula reseziert werden. Die Oberfläche des Tuberculum majus wird angefrischt, um das Anheilen der Sehnenstümpfe zu verbessern. Nach Anlegen einer Knochenrinne zwischen Tuberculum majus und Humerusknorpel für die spätere Insertion der Sehne, werden die Sehnenstümpfe mobilisiert und mittels entsprechender transossärer Nahttechnik oder Fadenankern in der Knochenrinne refixiert.

### **Mini - open - Operationstechnik**

Diese Technik, erstmals 1990 von Levy et al. beschrieben, kann mit einer vorgeschalteten diagnostischen Arthroskopie und ggf. einer arthroskopischen subacromialen Dekompression kombiniert werden.<sup>86</sup>

Die Mini - open - Operationstechnik erfolgt über einen Deltasplitzzugang ohne Ablösung des M. deltoideus vom Acromion. Die rupturierte Sehne wird dabei in oben beschriebener Technik offen refixiert. Der Vorteil dieses Verfahrens ist die kurze Schnittlänge von 4 cm direkt oberhalb der Rupturzone. Durch den Verzicht auf eine Ablösung des M. deltoideus vom Acromion ist, im Vergleich zum offenen Verfahren, das Risiko für eine Deltainsuffizienz

stark vermindert.

### **Arthroskopische Operationstechnik**

Die arthroskopische Rotatorenmanschettenrekonstruktion ist ein technisch anspruchsvoller Eingriff und erfordert ein großes Maß an Erfahrung.<sup>20</sup> In Abhängigkeit von Größe und Retraktionsgrad kann dieses Verfahren nicht in allen Fällen der Rotatorenmanschettenrekonstruktion zum Einsatz kommen.

Nach Einbringen des Arthroskops in das gleno - humerale Gelenk über die Arbeitsportale und Füllen des Gelenks mit Arthroskopie - Flüssigkeit erfolgt die diagnostische Inspektion (Klassifikation der Rotatorenmanschettenruptur nach Größe und Form).<sup>66</sup> Im Anschluss findet von intraartikulär und bursal die Mobilisierung der Sehnenstümpfe und die Bursektomie statt, um die Übersicht im Bereich des Footprints zu verbessern. Daraufhin erfolgt die Refixation der Sehnen, z. B. mittels Fadenankern in unterschiedlicher Technik (u. a. „single row“ - oder „double row“ - Technik) mit abschließender arthroskopischer Verknotung. Fakultativ finden heutzutage auch knotenlose Anker Anwendung, die das arthroskopische Knoten überflüssig machen.<sup>20</sup>

Die Arthroskopie bietet durch ihre minimalinvasive Operationsweise die Möglichkeit den M. deltoideus zu schonen und ist dabei dennoch in der Lage, die gesamte Rotatorenmanschettenläsion sowie Begleitpathologien darzustellen. Weitere Vorteile sind die geringe peri - und postoperative Morbidität mit geringer Infektionsrate, geringere postoperative Schmerzen im Vergleich zu anderen Verfahren sowie gute kosmetische Ergebnisse.<sup>67</sup>

Wie bei allen Maßnahmen der operativen Versorgung der Rotatorenmanschettenläsion kommt der zeitigen postoperativen Mobilisation eine tragende Rolle zu, um Adhäsionen zu vermeiden und gute funktionelle Ergebnisse zu ermöglichen.<sup>57,163</sup>

Eine Vielzahl von Studien zeigt gute klinische Ergebnisse für arthroskopische Rotatorenmanschettenrefixationen und somit sind primär biomechanisch stabile Rekonstruktionen möglich.<sup>54,55,65,102,144,145,148</sup> Trotzdem zeigen Untersuchungen eine hohe postoperative Rerupturrate:

So sind nach Harryman et al. und nach Liu und Baker bei mehr als 50 % der OP - Follow - Ups immer noch Defekte zu verzeichnen, insbesondere bei Rotatorenmanschettenläsionen, an denen nicht nur der M. supraspinatus beteiligt war.<sup>68,89</sup>

V. a. ältere Patienten und Patienten mit großen Läsionen wiesen eine höhere Prävalenz von bestehenden Defekten auf.

Auch weitere Studien nennen trotz stabiler Fixation hohe Rerupturraten von 23 - 68 %.  
42,68,87,88,168

Sowohl das Alter, die Gewebequalität, das Heilungsvermögen, aber auch der Effekt der Sehnenmobilisierung, scheinen dafür verantwortlich zu sein, da das Sehnengewebe, die Anhaftung am Knochen und das Potential für eine nachhaltige Reparatur mit Alter und Nichtnutzung nachlassen.<sup>112</sup>

Daneben sind zu hohe Spannungsverhältnisse der operativen Rekonstruktion eine wichtige Ursache für hohe Versagensraten und funktionell unbefriedigende Outcomes.<sup>36,122</sup>

Somit stellt insbesondere die Verringerung der Rerupturrate ein wichtiges Thema in der arthroskopischen Schulterchirurgie dar.

## **2.4 Anatomischer Vergleich: Mensch und Ratte**

Die Ratte stellt, aufgrund ihrer dem Menschen sehr ähnlichen Anatomie von Knochen, Muskulatur, Artikulation und Bewegungsablauf, ein gutes Tiermodell für die Untersuchung von Schulterpathologien dar.<sup>18,143</sup> Die Rotatorenmanschette dieses Wirbeltieres gleicht in ihrem Aufbau der des Menschen. Soslowsky et al. bestätigen, dass die Ratte das bestgeeignete Kleintier für das Untersuchungsmodell an der Rotatorenmanschette darstellt.<sup>143</sup> So passiert die humane Supraspinatussehne in ihrem Verlauf ein Gewölbe, den coracoacromialen Bogen, gebildet von Coracoid, Acromion und dem Lig. coracoacromiale. Bei der Ratte wird der knöcherne coracoacromiale Bogen ebenso von Coracocoid, Clavicula und Acromion gebildet.

Keines der anderen Tiere (Katze, Kaninchen, Chinchilla), die für vergleichende Studien herangezogen wurden, wies solch ein Gewölbe auf.

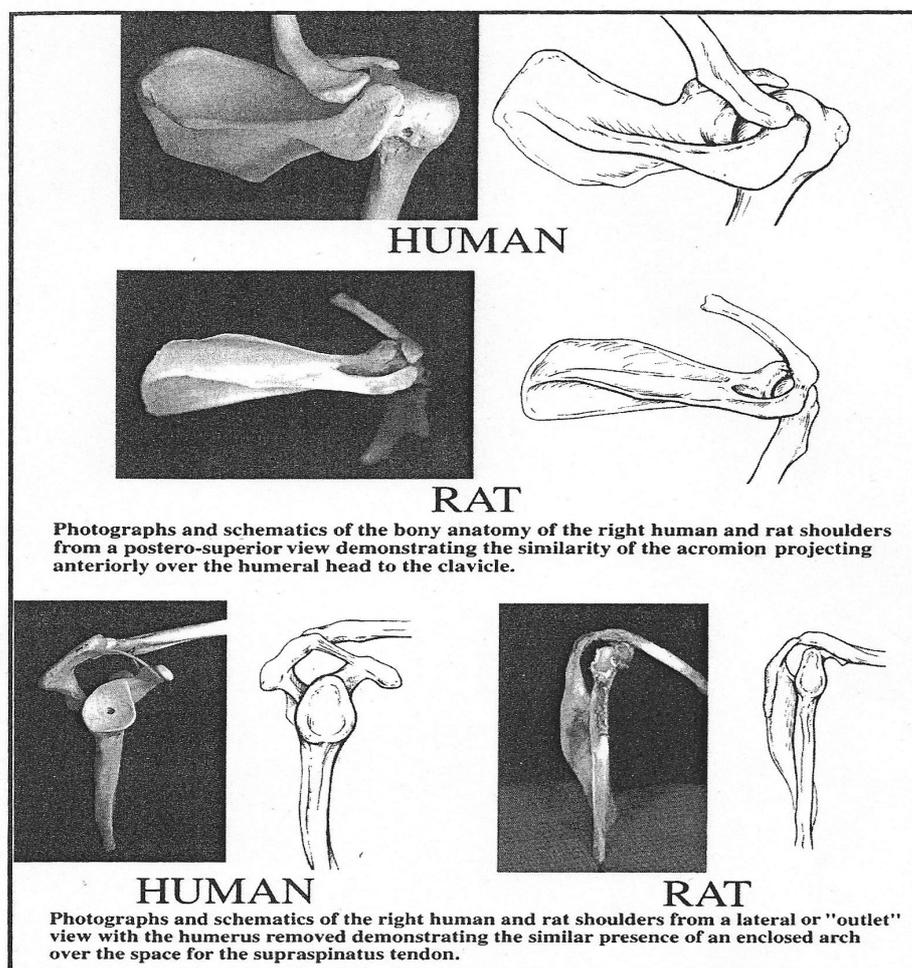
Zwar weisen Primaten, wie z. B. der Schimpanse, eine dem Menschen noch ähnlichere Anatomie auf, doch aus Logistik - und Kostengründen ist das Rattenmodell zu bevorzugen.

Grundsätzliche Unterschiede des menschlichen und tierischen Schultergelenks ergeben sich aus dem Zwei - bzw. Vierfüßlerstand.

Jedoch sind diejenigen Bewegungsabläufe, die als Ursache für Rotatorenmanschettenläsionen in Betracht gezogen werden, bei Ratten ebenfalls per Videoaufnahmen beobachtet worden

(Arbeiten / Greifen mit den Vorfüssen, Gehen). So zieht das Tier während der normalen Vorwärtsbewegung wiederholt die Supraspinatussehne unterhalb des Acromions vorbei, was vergleichbar ist mit einer Flexion in wechselnder Adduktions - und Rotationsstellung beim Menschen.<sup>143</sup> Da die Supraspinatussehne der Ratte beim Rennen wiederholt das Acromion passiert, kommt diese Bewegung auch den wiederholten Überkopftätigkeiten des Sportlers mit Supraspinatusbeanspruchung nahe.

Somit entschieden wir uns für die Ratte, deren Schulteranatomie zwar nicht dem menschlichen Vorbild vollkommen entspricht, aber ihm doch sehr ähnlich ist und das am besten realisierbare Tiermodell darstellte.



**Figure 1** Comparison of human and rat shoulder bony anatomy from postero-superior view and outlet view demonstrating enclosed arch over supraspinatus tendon area in both cases. Rat is only animal studied with anatomy comparable to humans.

**Abbildung 2:** Vergleich der Knochenstruktur der Schulter von Mensch und Ratte

(Quelle: Soslowsky et al.)<sup>143</sup>

## 2.5 Wundheilung durch Wachstumsfaktoren

Wachstumsfaktoren sind zellsezernierte Proteine, die zelluläre Funktionen, wie Zellproliferation und Wachstum, darunter auch normale Entwicklung und Gewebereparatur, regulieren. Sie können in autokriner Funktion auf die eigene Zelle oder in parakriner Funktion auf andere Zellen wirken, indem sie extrazellulär über Signal - Transduktions - Rezeptoren arbeiten.

Jeder Wachstumsfaktor besitzt verschiedene Isoformen oder Varianten. Unterschiede in Größe und Struktur ermöglichen unterschiedliche Bindungsaffinitäten und Funktionen.

Auch die Applikationsarten weisen unterschiedliche Möglichkeiten auf, so kann auf Applikation von isolierten Wachstumsfaktoren, *platelet rich plasma*, Stammzellen oder Gentransfer mit anschließender Produktion von Wachstumsfaktoren zurückgegriffen werden. Aufgrund der Fülle von Wachstumsfaktoren und deren Wirkung wird im Folgenden nur auf diese verwendeten Wachstumsfaktoren eingegangen. In unserer Studie wurden die folgenden Wachstumsfaktoren angewandt.

### **B - FGF (Basic - Fibroblast Growth Factor, FGF - 2):**

Der Basic - Fibroblast Growth Factor gehört zu einer Familie von 23 strukturell verwandten Polypeptiden von ca. 18 - 24 kD Molekulargewicht. Er ist Bestandteil einer Heparin - bindenden Wachstumsfaktorenfamilie, von welchen jedem eine unterschiedliche Rolle im Rahmen von Prozessen wie embryonaler Entwicklung, Organogenese und Tumorgenese zukommt. Er bindet an Heparin und Heparan - Sulfat - Proteoglykane von Zelloberfläche und Extrazellulärmatrix, worauf FGF - Tyrosinkinasen eine Signalinitiierung bewirken. Produziert wird b - FGF von Endothelzellen, Fibroblasten, glatten Muskelzellen, Chondrozyten und Mastzellen. Er ist einer der am stärksten vertretenen Wachstumsfaktoren im humanen Gewebe.<sup>63,73,74</sup>

Eine Studie von Kobayashi et al. zeigt, dass b - FGF zwischen Tag 7 bis 9 seinen Peak in der Wundheilung findet.<sup>84</sup>

Des Weiteren fördert b - FGF die Proliferation und Migration von Keratinozyten, stimuliert die Produktion von Kollagenase durch Fibroblasten und unterstützt die Proliferation von Kapillarendothelzellen.

Somit übernimmt er eine wichtige Rolle in der Angiogenese sowie in der Endothelheilung

nach Gefäßschädigung und beim Muskelwachstum.<sup>48</sup>

In unserem Interesse liegt, dass b - FGF in der frühen Wundheilungsphase, durch Entzündungszellen stimuliert, die Organisation des Granulationsgewebes bei der Wundheilung unterstützt und Prozesse in der Angiogenese moduliert (s. auch Abbildung 4).

**G - CSF (Granulozyten - Colony - Stimulating - Factor):**

Die Wachstumsfaktoren G - CSF (Granulozyten - Colony - Stimulating - Factor) und GM - CSF (Granulozyten - Makrophagen - Colony - Stimulating - Factor) sind Peptidhormone, die unter anderem bei Entzündung die Bildung von Granulozyten stimulieren. Beide sind monomere Glykoproteine mit einem Molekulargewicht von 15 - 45 kD und gehören zu den Zytokinen. Die molekularen Wirkmechanismen sind bei G - CSF, wie bei allen Rezeptoren der Zytokinrezeptor - Superfamilie, Januskinasen und STAT - Proteine.

Zum einen stimuliert G - CSF laut Studien die Proliferation unreifer Vorläuferzellen aus dem hämatopoetischen System (Prä - CFU) und determinierter Progenitorzellen für neutrophile Granulozyten (CFU - GM).<sup>16,123</sup> Dadurch werden hämatopoetische Vorläuferzellen aus dem Knochenmarksverbund freigesetzt und in das periphere Blut freigegeben. Zum anderen wirkt G - CSF bei Entzündung auch direkt auf reife neutrophile Granulozyten ein, indem er diese aktiviert und sie durch Chemotaxis zu den Infektionsherden gelangen.

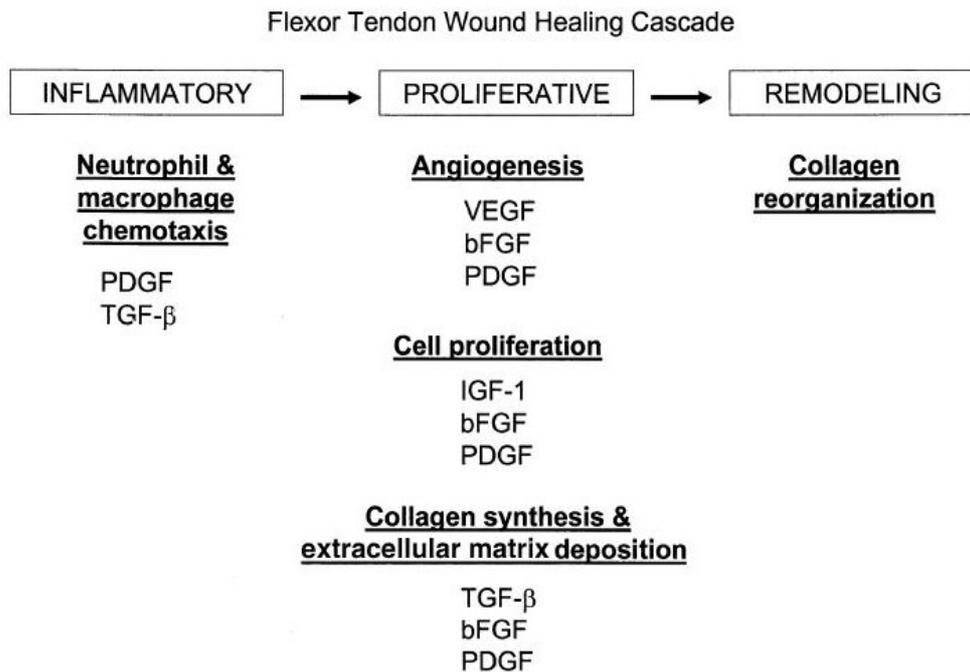
Im klinischen Alltag findet G - CSF als Medikament Einsatz, insbesondere für Chemotherapiepatienten, deren Neutrophilenzahlen auf zu niedrige Werte abzusinken drohen.

	CTRL	1 wk	2 wks	4 wks	8 wks	16 wks
BFGF	+/+	+++ / +++	++ / +++	+/+	++ / ++	+ / -
BMP-12	+/+	+++ / +++	+ / ++	+/+	++ / ++	+ / -
BMP-13	+ / -	++ / +++	++ / +	++ / +	++ / +	- / -
BMP-14	+/++	++ / +++	+ / +	+/+	+ / ++	- / -
COMP	+/+	+++ / +++	+ / ++	++ / +	+ / +	- / -
CTGF	+/+	+++ / +++	++ / ++	+/+	++ / ++	+ / -
PDGF-B	UD / +	UD / +++	UD / ++	UD / +	UD / +	UD / +
TGF-β1	+/+	++ / ++	++ / ++	- / +	+ / ++	- / -

*CTRL*, control; *bFGF*, basic fibroblastic growth factor; *BMP*, bone morphogenic protein; *COMP*, cartilage oligomeric matrix protein; *CTGF*, connective tissue growth factor; *PDGF-B*, platelet-derived growth factor B; *TGF-β1*, transforming growth factor β1; *UD*, undetected.

**Abbildung 3:** Wachstumsfaktorenexpression während der Heilung des M. supraspinatus (Quelle: Würgler - Hauri, Seite 200)<sup>164</sup>

Aktuelle Studien zeigen, dass einzelne Wachstumsfaktoren eine tragende Rolle bei der intrinsischen und extrinsischen Sehnenheilung spielen, so unter anderem auch die von uns verwendeten (s. Abbildung 5). Ide et al. zeigten, dass Wachstumsfaktoren während verschiedenster Phasen von Knochen - und Sehnenheilung exprimiert werden.<sup>73</sup> Demnach ist es von großem Interesse, sie als therapeutische Substanzen einzusetzen, um das postoperative Outcome von Rotatorenmanschettenrekonstruktionen zu verbessern.



**Abbildung 4:** Wundheilungskaskade

(Quelle: Hsu, Seite 558)<sup>71</sup>

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1 Behandlung der Tiere**

Nach Genehmigung des Tierversuchsvorhabens (N° 55.2 - 1 - 54 - 2531 - 138 - 07) gemäß § 8 des deutschen Tiergesetzes durch die Regierung von Oberbayern, wurde unsere experimentelle Studie, finanziert durch die Deutsche Arthroshilfe e. V., an insgesamt 107 Tieren durchgeführt.

Die Haltung der Tiere und die Versuche erfolgten im Zentrum für präklinische Forschung (ZPF) der Technischen Universität München, unter Leitung von Frau Dr. med. vet. Gabriele Wexel und stellvertretend Herrn Dr. med. Stefan Buchmann.

Für die Versuche im Zeitraum von 05.2008 bis 05.2009 wurden adulte, weiße, männliche Sprague - Dawley® - Ratten mit einem durchschnittlichen Gewicht von 427 g (SD 27,9) verwendet.

Die Ratten wurden von der Fa. Charles River Laboratories (Sulzfeld) in einem Alter von 14 Wochen und mit einem Gewicht von ca. 400 - 500 g geliefert und waren speziell für Versuchszwecke unter SPF - Bedingungen (spezifiziert keimfrei) gezüchtet.

Nach Erhalt der Lieferung wurden die Tiere gewogen und einer allgemeinen tierärztlichen Untersuchung unterzogen, um ihnen anschließend eine 14tägige Eingewöhnungsphase zu gewähren.

Für die gesamte Versuchsdauer befanden sich die Sprague - Dawley® - Ratten zu viert in Standardkäfigen aus Makrolon Typ III (Höhe: 20 cm, Breite: 22 cm, Tiefe: 37 cm) mit Holzgranulateinstreu. Sie erhielten Rattenpellets der Fa. Altromin und Wasser ad libitum.

Neben der eindeutigen Identifizierbarkeit der einzelnen Ratten nach den Operationen mittels internationaler Ohrlochung, erhielt jeder Tierkäfig eine Kennzeichnung mit Käfigkarten nach Vorschrift des Tierschutzgesetzes (s. Abbildung 6). Anhand dieser waren Fütterung, Medikation und Art des Experiments stets nachvollziehbar.



**Abbildung 5:** Versuchstier mit internationaler Ohrlochung und Käfigkarte

Die Käfige befanden sich in einem Raum, der speziell für die Tierhaltung konzipiert war und eine artgerechte Haltung sicherstellte. Zur Erholung und Ruhe war der Personenzutritt begrenzt und ein Hell - Dunkel - Rhythmus von 12 Stunden mit Dämmerungsphase vorgegeben. Das Raumklima betrug durchgängig etwa 23° Celsius.

Während der gesamten Versuchszeiträume unterlagen die Tiere einer regelmäßigen tierpflegerischen und veterinärmedizinischen Kontrolle und die Durchführung der Versuche fand unter Berücksichtigung der Richtlinien des für diese Studie eingeholten TV - Antrages statt.

### **Prämedikation, Anästhesie und Postmedikation**

Alle operativen Eingriffe an der Rotatorenmanschette der Sprague - Dawley® - Ratten erfolgten unter Vollnarkose. Zu Beginn jeder Operation wurde das entsprechende Tier gewogen, um eine gewichtsadaptierte Narkosemenge verabreichen zu können.

Als Narkose wurde eine Kombination aus 0,15 µg / kg Medetomidin (Dormitor®, Fa. Pfizer), 2 mg / kg Midazolam (Dormicum®, Fa. Ratiopharm) und 0,005 mg / kg Fentanyl (Fentanyl®, Fa. Deltaselect) verwendet. Jedem Tier wurde eine gewichtsadaptierte Dosis

mittels Mischspritze (Fa. Braun) intramuskulär (i. m.) injiziert.

Die Narkose bot die Möglichkeit einer bedarfsorientierten Nachdosierung und einer kompletten Antagonisierbarkeit nach Beendigung des Eingriffs. Zudem enthielt sie eine analgetische Komponente, so dass die Tiere in der Lage blieben spontan zu atmen, wobei eine ausreichende Sauerstoffzufuhr durch einen ständigen Nachschub von 100 %igem Sauerstoff (3 l / min) während der Operation gewährleistet wurde. Herzfrequenz und periphere Sauerstoffsättigung unterlagen einer ständigen Kontrolle durch ein Pulsoximeter (Fa. Ohmeda), welches an einem der Hinterläufe angelegt war (s. Abbildung 7).

Die Auskühlung des Tierkörpers während der Operation wurde durch eine Wärmematte (36 ° Celsius, Fa. Horn) verhindert.



**Abbildung 6:** Operative Überwachung

Nach Beendigung des Eingriffes wurde mittels einer Mischspritze subkutan (s. c.), der Antagonist appliziert, bestehend aus 0,75 mg / kg Atipamezol (Antisedan®, Fa. Pfizer), 0,2 mg / kg Flumazenil - hameln (Fa. Inresa) und 0,12 mg / kg Naloxon (Fa. Deltaselect).

Mit diesem narkotischen Antagonisten war ein schnelles Wiederaufwachen der Tiere ermöglicht und damit ein Auskühlen, welches unter Kreislaufbelastung besonders in der

Nachschlafphase eintritt, unterbunden.

Postoperativ erhielten die Tiere als weitere analgetische Komponente 1 - 2 Tropfen / 4 h Metamizol p. o. (Fa. Ratiopharm) und zusätzlich, einen Tag präoperativ bis drei Tage postoperativ, einmal täglich 0,05 mg / kg Buprenorphin s. c. (Temgesic®, Fa. Reckitt Benckiser Healthcare (UK) Ltd.).

### **3.2 Muskel - / Sehndegeneration bei Supraspinatussehnenruptur (Phase I)**

#### **3.2.1 Operatives Procedere**

Im Versuchsmodell I erfolgte die ansatznahe Durchtrennung der rechten Supraspinatussehne ohne Rekonstruktion, um nach 3, 6 und 9 Wochen die Veränderung und Defekteinheilung des Muskel - und Sehngewebes makroskopisch und histologisch zu untersuchen. Die histologische Beurteilung fand am Pathologischen Institut, Bad Homburg vor der Höhe, durch Herrn Dr. med. Lars Walz und Herrn PD Dr. med. Achim Battmann statt. Ziel war es, ein standardisiertes Rattenmodell zur chronischen Rotatorenmanschettenruptur des Menschen zu erstellen, um daraus den geeigneten Zeitpunkt für die Refixierung der Sehne in Phase II zu evaluieren. Demnach sollten die degenerativen Veränderungen der Rattensehne im histologischen Präparat denen einer chronischen Rotatorenmanschettenruptur des Menschen möglichst nahe kommen. Die kontralateralen linken Schultern wurden als normale, nicht operierte Kontrollgruppe zum Vergleich miteingesandt.

Sämtliche operative Eingriffe der ersten Phase fanden vom 15.04.2008 bis 11.06.2008 in den Tieroperationsräumen des ZPF der Technischen Universität München unter Vollnarkose und aseptischen Bedingungen statt.

Für jedes Zeitintervall ( $t = 3,6,9$ ) wurden 15 Ratten operiert, beginnend mit den 9 Wochen - Tieren im April 2008. Aufgrund einer höchstwahrscheinlich bereits präoperativ bestehenden Nierenerkrankung, verstarb Tier Nr. 43 aus der Untersuchungsgruppe  $t = 3$ , so dass insgesamt 46 Tiere operiert wurden (s. Tabelle 5).

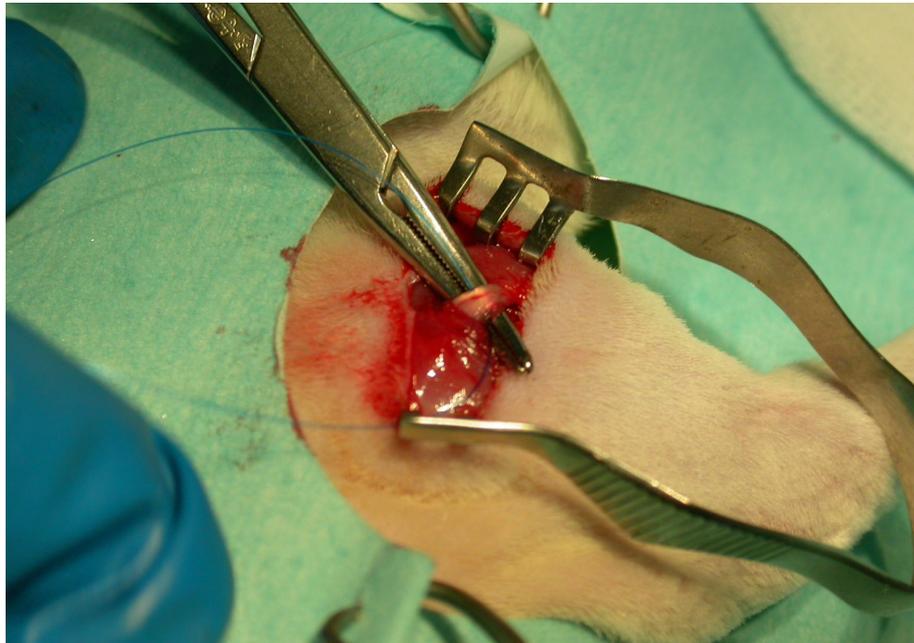
Nach Einleitung der Narkose wurde das OP - Feld der Ratten, der rechte Schulter - und Unterarmbereich, rasiert (Fa. Aesculap - Rasierapparat) und desinfiziert (Cutasept®, Fa. Bode).

Anschließend wurde das Tier in linker Seitenlage auf dem OP - Tisch positioniert und der

Körper, unter Aussparung der Schulter - Arm - Region, mit einem Lochtuch abgedeckt.

Um Korneaschäden und einer damit verbundenen möglichen Erblindung vorzubeugen, wurden präoperativ die Augen der Sprague - Dawley® - Ratten mit Augensalbe (Bepanthen®, Fa. Bayer) bedeckt.

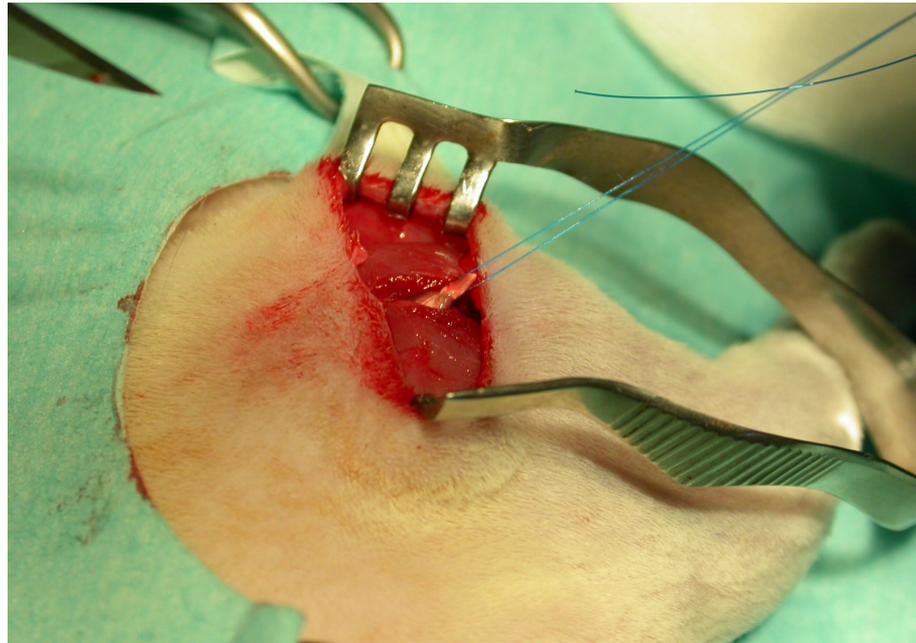
Nun erfolgte mit einem Skalpell (No. 15) eine 1,5 - 2 cm lange Hautinzision (Deltasplit) über dem antero - lateralen Acromion nach distal auslaufend, um primär den M. deltoideus freizupräparieren. Im Anschluss wurde Pars acromialis nach scharfer Eröffnung der Deltafaszie stumpf in Faserrichtung über dem M. supraspinatus mittels Präparierschere gespalten, ohne den acromialen Ansatz abzutrennen. In Adduktion, leichter Innenrotation und Retroversion erfolgte nun die Exposition der Supraspinatussehne (s. Abbildung 8).



**Abbildung 7:** Exposition der Supraspinatussehne

Im Folgenden wurde die Supraspinatussehne ansatznah am Humeruskopf mit einem monofilen, nicht resorbierbaren Faden (Prolene 5/0, Fa. Ethicon) angeschlungen, ein dreifacher Knoten gesetzt und ca. 1 - 2 mm Fadenende zur späteren leichteren

Wiederauffindung des Stumpfes bei Skarifikation belassen (s. Abbildung 9). Nun konnte die Supraspinatussehne vom anatomischen Footprint (Feather® Disposable Scalpel, No. 11) scharf abgetrennt werden (Rotatorenintervall anterior bis zum Ansatz des ISP posterior) und anschließend nach ventral und dorsal mit dem Skalpell mobilisiert werden.



**Abbildung 8:** Anschlingen der Supraspinatussehne

Abschließend wurde der OP - Zugang durch eine subcutane Naht mit resorbierbarem Nahtmaterial in Einzelknopftechnik verschlossen (Prolene 4/0 - Faden, Fa. Ethicon) und mit wasserdampfpermeablem Sprühverband (Opsite, Fa. Smith & Nephew) versorgt.

Jedes Tier wurde zur Registrierung mit der international standardisierten Ohrlochung versehen. Im Anschluss an die Operation wurden die Tiere mit dem narkotischen Antagonisten samt Analgetikum versorgt. Die Tiere durften sich postoperativ ohne Einschränkungen frei im Käfig bewegen. Die postoperative Schmerzmedikation mittels Metamizol p. o. und Buprenorphin s. c. wurde postoperativ im 12 h - Rhythmus für drei Tage durchgeführt.

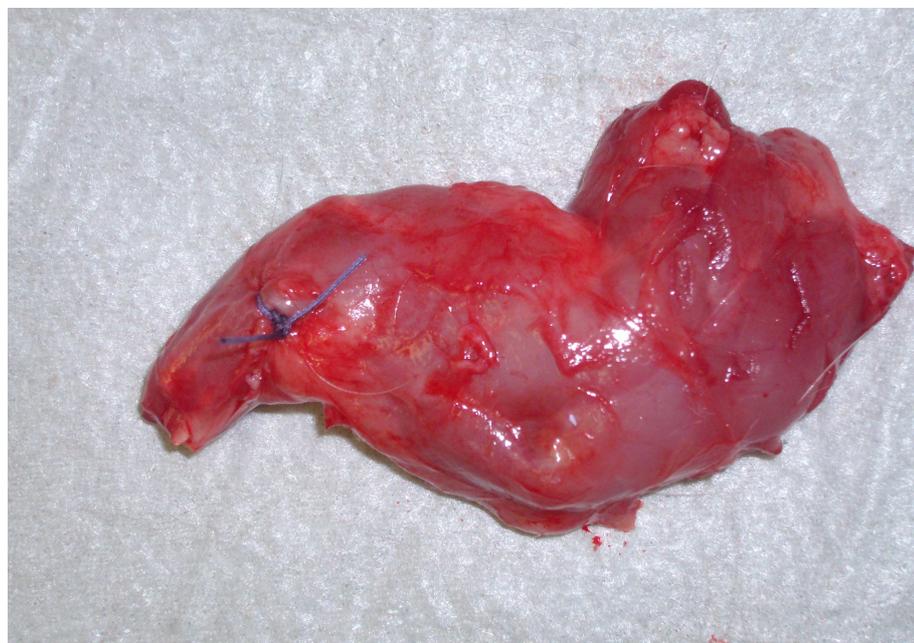
### 3.2.2 Datengewinnung und -auswertung

Das Einheilungsverhalten der Supraspinatussehne und die Morphologie des Muskels wurden zu drei Zeitpunkten (3, 6 und 9 Wochen postoperativ) erhoben, wobei jede Gruppe nur an einem der Zeitpunkte ausgewertet wurde.

Zur makroskopischen und histologischen Untersuchung der Defektheilung der abgesetzten Supraspinatussehne wurden die Tiere nach jeweils 3, 6 und 9 Wochen euthanasiert (17.06.2008 bis 08.07.2008). Die Narkotisierung der Tiere erfolgte mit MMF (0,45 ml) und die darauffolgende Euthanasie in Form einer intracardialen überdosierten Pentobarbitalinjektion (0,4 ml).

Es wurde post mortem die rechte, operierte Schulter präpariert, um die histologischen Veränderungen bei einem natürlichen Heilungsverlauf einer Ruptur nachzuvollziehen (s. Abbildung 10). Zudem wurde zur histologischen Kontrolle die nicht operierte linke Schulter als Vergleichsgruppe entnommen.

Nach eingetretenem Herzstillstand wurde beidseits post mortem die Muskel - Sehnen - Einheit des M. supraspinatus proximal der Fossa supraspinata und distal von der knöchernen Insertion des Humeruskopfes abgesetzt und entnommen.



**Abbildung 9:** Muskel - Sehnen - Einheit nach Freipräparation

Eine primäre makroskopische und photographische Beurteilung der Defektheilung der Supraspinatussehne nach Phase I erfolgte bereits direkt nach Euthanasie, um anschließend, gestützt durch die histologische Auswertung, den optimalen Zeitpunkt für das zweite Versuchsmodell zu ermitteln.

Die Defektheilung wurde makroskopisch in:

- keine Defektdeckung,
- partielle Defektdeckung (> 50 % des Footprints bedeckt),
- komplette Defektdeckung

eingeteilt.

Anschließend wurden beide Präparate nach Fixierung in 4 % - igem Formalin in Einzelgefäßen zur histologischen Untersuchung an das Pathologische Institut, Bad Homburg vor der Höhe (Dr. med. Lars Walz und PD Dr. med. Achim Battmann) geschickt.

Dort wurden die Präparate jeder Gruppe parafiniert, in 5 µm dicke Präparate geschnitten und in Hämatoxylin / Eosin - und PAS - Färbung histologisch aufgearbeitet.

Die qualitative histologische Untersuchung durch den Pathologen erfolgte verblindet mittels digitaler Mikroskopie (Leica Microsystems, Jena, Germany). Mit einem Digital Kamera System (Nikon Inc, Duesseldorf, Germany) wurden die Bilder aufgenommen und analysiert.

Die Schnitte waren parallel zum Sehnenfaserverlauf ausgerichtet und enthielten sowohl Sehnen - und Muskelgewebe als auch jegliches Narbengewebe, welches den Spalt zwischen Sehne und Knochen im Verlauf der Heilung ausgefüllt hatte.

Die linke Schulter wurde zur Standardfestlegung der histologischen Beurteilung mituntersucht.

Es wurden in 6 Hauptgesichtsfeldern (HPF, high - power field) pro Muskel - und Sehnenanschnitt

- die Zellzahlen von Sehne und Muskel in Rastereinteilung (im Vergleich unterschiedlicher Regionen),
- der Verfettungsgrad mit Subtraktionsanalysen,
- der Muskelquerschnitt,
- die Faserausrichtung (geordnet / ungeordnet),
- die Sehnendegeneration und lipomatöse Atrophie des Muskels (40fach Gesichtsfeld),
- das Ausmaß von florider oder chronischer Entzündung

untersucht.

Zur Beurteilung der Inflammation verwendeten wir ein semiquantitatives Schema, welches die Grade in N = normale oder keine Inflammation, + = milde und ++ = starke Inflammation einteilte. Zur Auswertung der histopathologischen Veränderungen nach Absetzung der Supraspinatussehne verwendeten wir einen nach Maffulli et al. modifizierten MOVIN - Score (s. Abbildung 11).<sup>96,105</sup> Dieser bot bereits in verschiedenen Studien an humanen Präparaten die Grundlage für eine vergleichende pathologische Diagnostik von Tendopathien und war somit einerseits als reines Klassifikationsschema, andererseits für den Vergleich mit humanen Präparaten für unsere Studie geeignet.

Der MOVIN - Score wendet semiquantitative Kriterien zur Beurteilung an, basierend auf einer vierstufigen Skala von 0 - 3 mit insgesamt sechs zu untersuchenden Variablen.

Dafür werden die Sehnen - und Muskelpräparate mit Hämatoxylin - Eosin eingefärbt und anschließend unter dem Lichtmikroskop untersucht.

Der modifizierte MOVIN - Score setzte sich aus sechs Variablen zusammen:

- (1) Faserstruktur
- (2) Fasernanordnung
- (3) Rundheit der Zellkerne
- (4) Regionale Unterschiede der Zellpopulationen
- (5) Verstärkte Vaskularität
- (6) Hyalinisierung

Jede Variable wird mittels der vierstufigen Skala beurteilt. Dabei bedeutet:

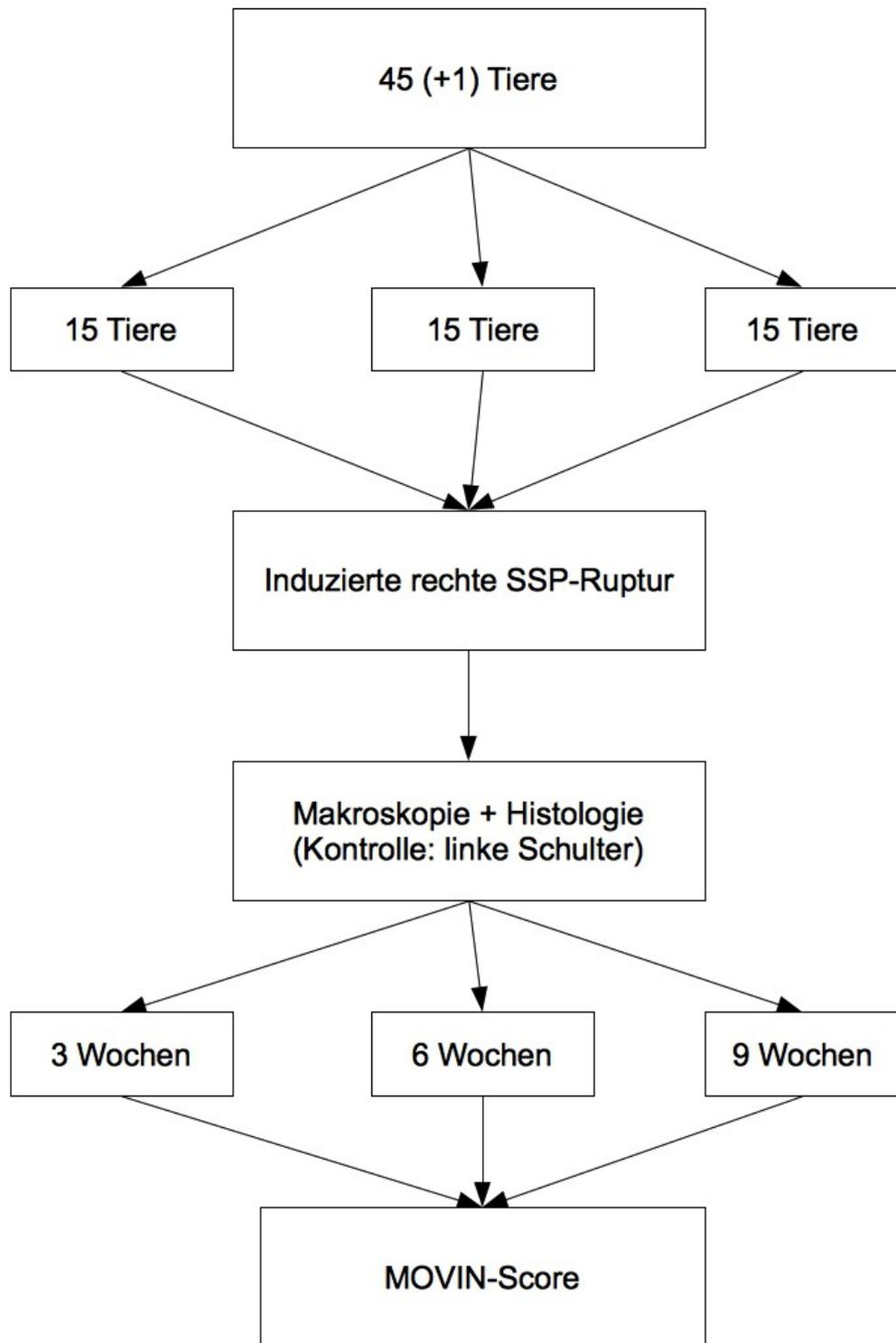
0 = normale, 1 = leichte Veränderung, 2 = mittlere Veränderung und 3 = starke Veränderung.

Aus den einzelnen Variablenresultaten wird letztlich der Summenwert errechnet, der dem Intervall von 0 - 18 zugeordnet werden kann.

Die Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mittels des Wilcoxon Tests (Software R, Version 2.10.0) evaluiert. Das Signifikanzniveau betrug  $p < 0,05$ .

<b>Versuchsmodell 1 :</b>
45 Ratten (+ 1 Ratte)
3 Gruppen, Gruppengröße 15 Tiere
Induzierte rechte SSP - Ruptur
Makroskopie + Histologie: Zeitpunkte nach 3, 6, 9 Wochen (Kontrolle linke Schulter)
MOVIN - Score

**Tabelle 5:** Versuchsmodell der Phase I



**Abbildung 10:** Flussdiagramm der Versuchsreihe Phase I

### 3.3 Pumpenapplikation von Wachstumsfaktoren (Phase II)

#### 3.3.1 Operatives Procedere

In der zweiten Phase wurden die Refixation der Supraspinatussehne 3 Wochen nach Absetzung der Sehne gemäß den in 3.2 beschriebenen Abläufen durchgeführt und gleichzeitig die mit Wachstumsfaktoren beladenen Osmosepumpen (Model 2004, Alzet, Cupertino, CA, USA) implantiert. Die Versuche erfolgten im ZPF im Zeitraum vom 16.09.2008 bis zum 10.03.2009.

Anhand von insgesamt vier Gruppen (pro Gruppe n = 15 Ratten) unterschiedlicher Wachstumsfaktorenbefüllung der Osmosepumpen sollte untersucht werden, inwieweit eine verbesserte Einheilung unter kontinuierlicher subacromialer Wachstumsfaktorfreigabe erfolgt.

Insgesamt wurden 60 Tiere operiert (mittleres Gewicht 492 g, SD 42,3) und 45 Pumpen implantiert, wobei Tier Nr. 103 aufgrund eines Narkosezwischenfalls verstarb, sodass insgesamt 61 Tiere operiert wurden.

Die Lösungen der Osmosepumpen waren für Zeiträume von bis zu 4 Wochen konzipiert, wobei in unserer Studie eine Wachstumsfaktorfreigabe über 20 Tage erfolgte.<sup>148</sup> Die Förderleistung der Pumpe betrug  $0,28 \pm 0,01 \mu\text{l} / \text{h}$ . Das Füllungsvolumen berechnete sich aus dem Nettogewicht der Pufferlösung und war festgesetzt auf im Mittel  $251,8 \pm 6,0 \mu\text{l}$ .

Gruppe 1 der Wachstumsfaktoren enthielt b - FGF (ProSpec, East Brunswick, NJ, USA) mit einer fixen Freisetzungsrate von  $0,5 \mu\text{g} / 24 \text{ h}$ . Gruppe 2 war mit G - CSF (Neupogen, Amgen, Thousand Oaks, CA, USA)  $5 \mu\text{g} / 24 \text{ h}$  und Gruppe 3 mit b - FGF und G - CSF 50 % / 50 % beladen. Gruppe 4 erhielt eine Rekonstruktion ohne spätere Pumpenapplikation (s. Tabelle 5 - 6, Abbildung 18).

Die Pumpen wurden extern in sterilem Verfahren mit Proteinlösung versehen und unverzüglich für unsere Experimente angeliefert.

	<b>G - CSF</b>	<b>b - FGF</b>	<b>G - CSF + b - FGF</b>
Konzentration	834 µg/ml	83,4 µg/ml	834 µg/ml; 83,4µg/ml
Freisetzung / 24 h	5 µg	0,5 µg	5 µg; 0,5 µg
Lösung	10mM Acetatpufferlsg. pH 3,9 0,004 % Tween 5 % Sorbitol	10mM PBS-Lsg. pH 7,4 0,1 % BSA	10mM Acetatpufferlsg. pH 3,9 0,004 % Tween 5 % Sorbitol

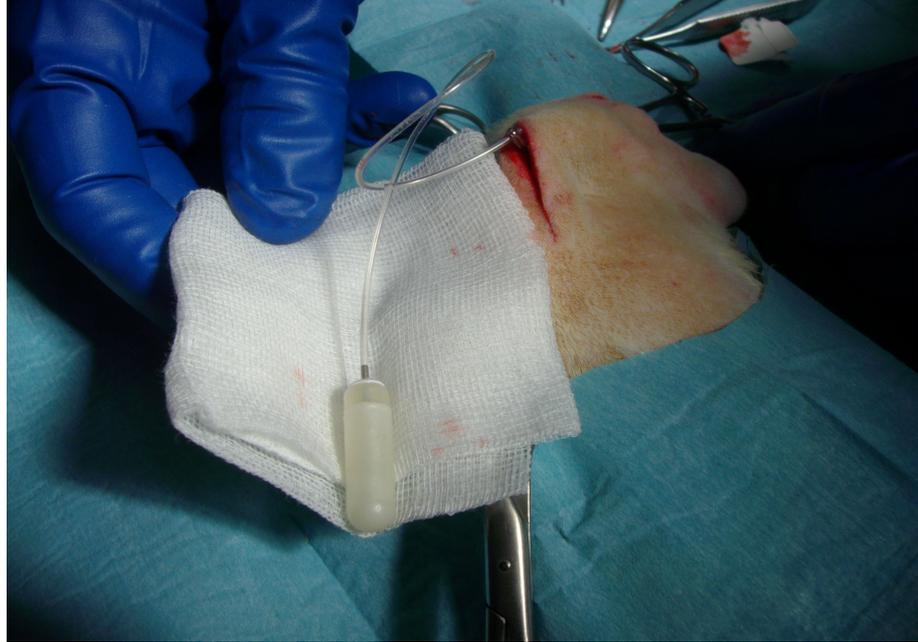
**Tabelle 6:** Zusammensetzung der Wachstumsfaktorlösungen der Osmosepumpen

Nach Eingang über den Zugang der ersten Operation erfolgte ein T - förmiger Schnitt durch den M. deltoideus mit acromialer Ablösung des Ansatzes nach dorsal und ventral des Deltasplitzzuganges. Nach ausführlicher Adhäsioolyse von subacromialen Verwachsungen erfolgte das Aufsuchen des Sehnenstumpfes mit dem Markierungsfaden. Um eine spannungsfreie Rekonstruktion erzielen zu können, wurde eine Mobilisierung subacromial und periglenoidal durchgeführt. Nach ausreichender Mobilisierung erfolgte die Fixierung der Supraspinatussehne am Humeruskopf mittels transossärer Naht (Prolene 5/0, Ethicon) nach Technik wie von Thomopoulos et al. beschrieben.<sup>152</sup> In allen Fällen erlaubte die ausreichende Mobilisation eine Rekonstruktion ohne übermäßige Spannung.

Der Faden wurde standardisiert von ventral durch die Sehne geführt und von der Oberfläche wieder nach dorsal ausgestochen (Matratzennaht). Daraufhin wurde er in den ventralen Ansatz des M. infraspinatus am Tuberculum majus gestochen und abschließend transossär nach ventral geführt. Ventral erfolgte dann das Verknoten mittels vier gegenläufiger Einzelknoten.

Über einen 2 cm langen zentralen Hautschnitt, etwa 1 cm distal des unteren medialen Pols der Scapula, wurde ein subcutaner Raum für die Pumpe freipräpariert. Am Abgang des Schlauches wurde die Pumpe mit einem Faden verknotet und dieser weiter distal durch die subcutane Schicht gestochen und dort verknotet. Somit war die Pumpe lokal fixiert (s. Abbildung 12). Der Schlauch wurde dann subcutan zur Schulter durchgeführt und mittels einer transacromialen Matratzennaht (Prolene 5/0) nach Perforation des Schlauches subacromial fixiert (s. Abbildung 13 - 17). Der dorsale Flügel des T - förmigen Zuganges wurde dann über den Schlauch nach acromial refixiert (Prolene 5/0). Anschließend erfolgte in gleicher Weise die Fixation des ventralen Flügels nach acromial. Dadurch war eine täglich

definierte Abgabe von Wachstumsfaktoren über 3 Wochen möglich. Der Verschluss beider Operationswunden erfolgte wie unter 3.2.1 beschrieben.



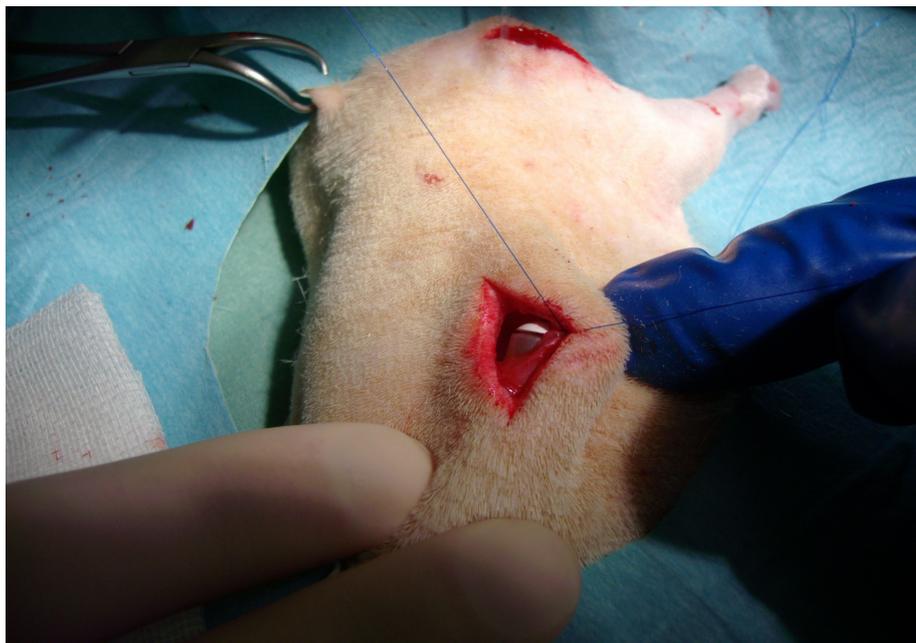
**Abbildung 11:** Osmosepumpe vor Implantation



**Abbildung 12:** Hautschnitt für die interscapuläre Pumpenimplantation



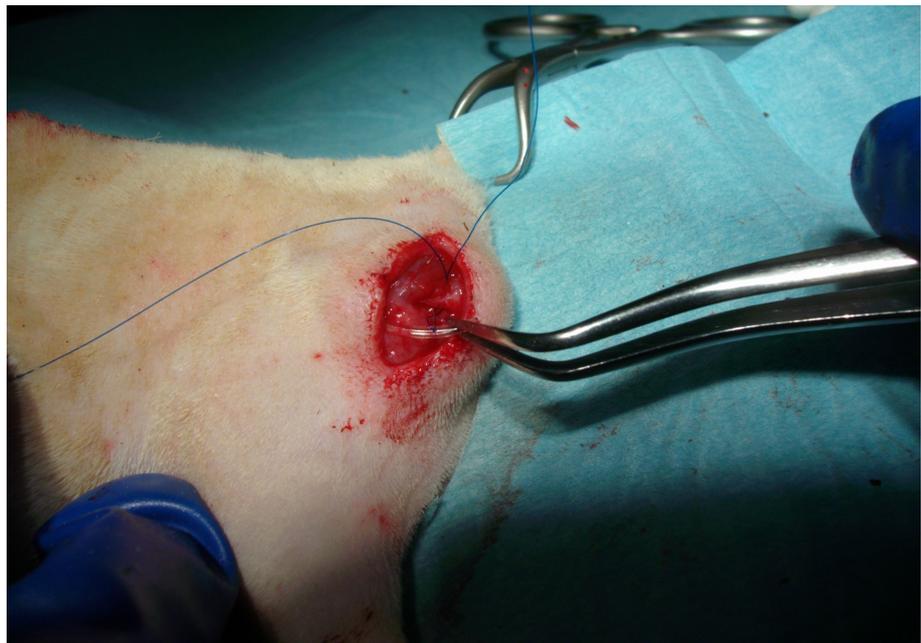
**Abbildung 13:** Subcutaner Verlauf des Pumpenschlauches zur rechten Schulter



**Abbildung 14:** Fixierung der Osmosepumpe



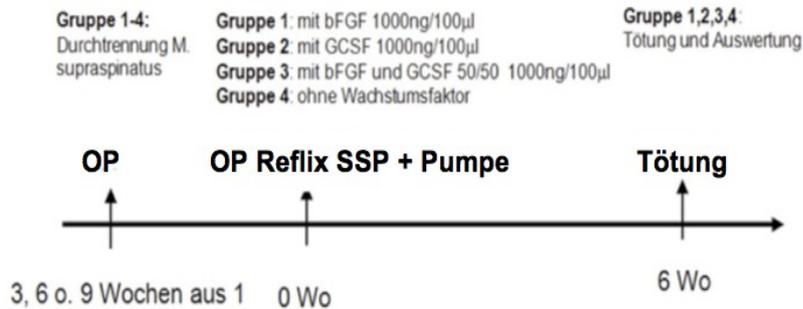
**Abbildung 15:** Interscapuläre Platzierung der Osmosepumpe



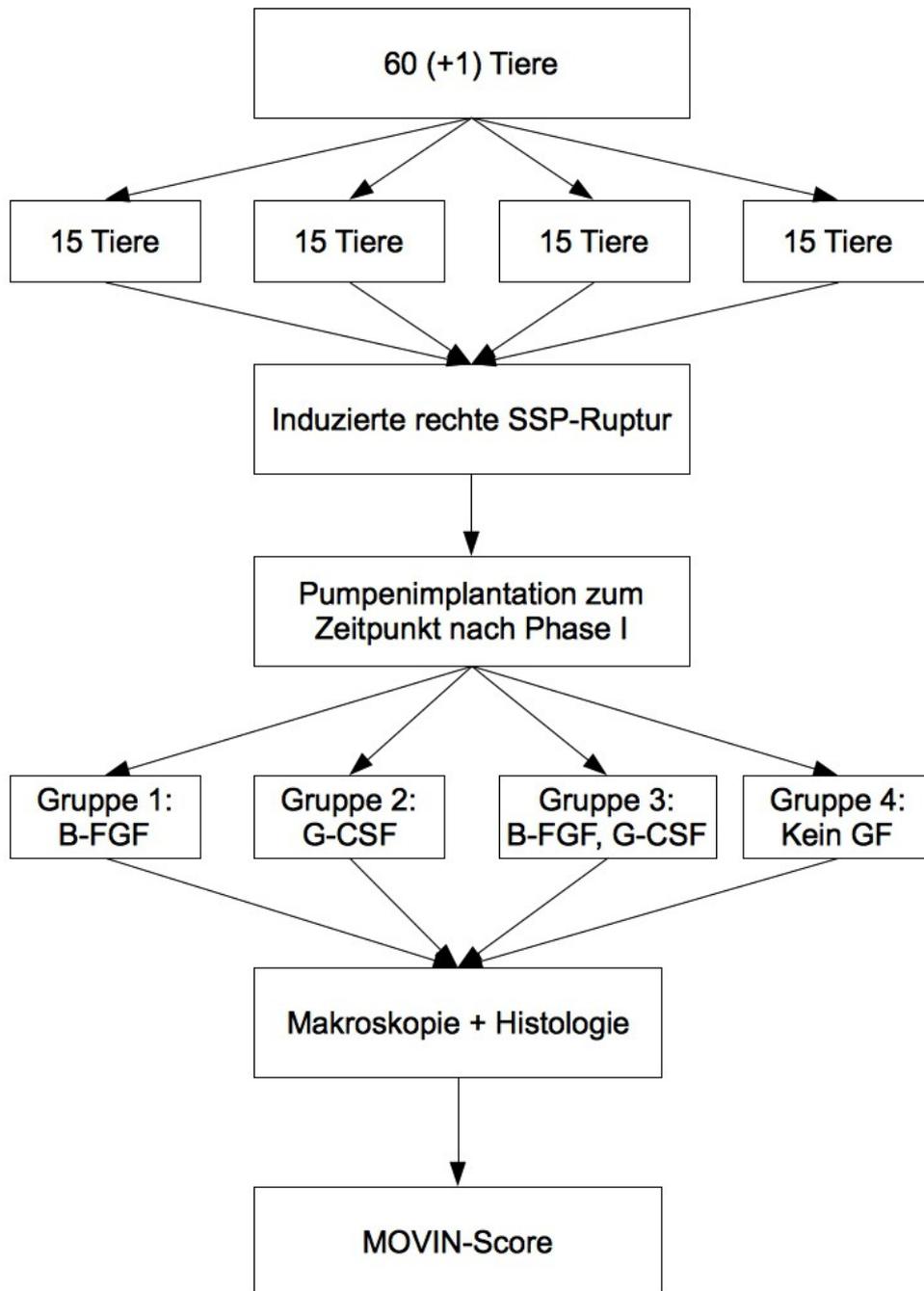
**Abbildung 16:** Subacromiale Fixierung des Schlauches

<b>Versuchsmodell 2:</b>
60 Ratten mit implantierten osmotischen Pumpen (+ 1 Ratte)
4 Gruppen, Gruppengröße 15 Tiere
Induzierte rechte SSP - Ruptur
Bestimmter Zeitpunkt aus Versuchsmodell 1 - Pumpenimplantation
Gruppe 1 mit b - FGF 0,5 µg / 24 h
Gruppe 2 mit G - CSF 5,0 µg / 24 h
Gruppe 3 mit b - FGF und G - CSF 50 % / 50 %
Gruppe 4 ohne Wachstumsfaktor
Makroskopie und Histologie nach 6 Wochen
MOVIN - Score

**Tabelle 7:** Versuchsmodell der Phase II



**Abbildung 17:** Zeitplan der Phase II



**Abbildung 18:** Flussdiagramm der Versuchsreihe Phase II

### **3.3.2 Datengewinnung und -auswertung**

Im Versuchsmodell II wurden die Tiere nach 6 Wochen durch eine überdosierte intrakardiale Pentobarbital - Injektion (0,4 ml) nach dem Schema aus Phase I euthanasiert. Es erfolgte eine primäre makroskopische und photographische Beurteilung mit Kontrolle und Dokumentation. Anschließend wurde post mortem die Pumpe entfernt, beidseits der Humeruskopf mit Schaft und M. supraspinatus entnommen, und nach Fixierung in 4% - igem Formalin an das Pathologische Institut Bad Homburg vor der Höhe geschickt.

Die histologische Auswertung erfolgte analog Phase I anhand des MOVIN - Scores (3.2.2), zusätzlich zur H. E. - Färbung in Kollagenfärbung.

Es wurden die p - Werte der Wachstumsfaktoren im Vergleich ermittelt, bei einem Signifikanzniveau von  $\leq 0,05$ . Wie in Phase I wurden die Gruppenunterschiede mittels Wilcoxon Test (Software R, Version 2.10.0) verglichen. Eine Vorversuch Power - Analyse (power > 0,80) wurde für den Summenwert (MOVIN) durchgeführt, mit einem prognostizierenden Score - Unterschied von 3 Punkten und einer Standardabweichung von 2,25 Punkten.

## **4. Ergebnisse**

### **4.1 Phase I**

In Phase I wurde nach Absetzen der Supraspinatussehne eine schwerwiegende Komplikation beobachtet. Ein Versuchstier verstarb in der ersten postoperativen Nacht an einem wahrscheinlich schon vorbestehenden Nierenschaden. Von allen anderen Tieren wurde der Eingriff ohne Komplikationen toleriert.

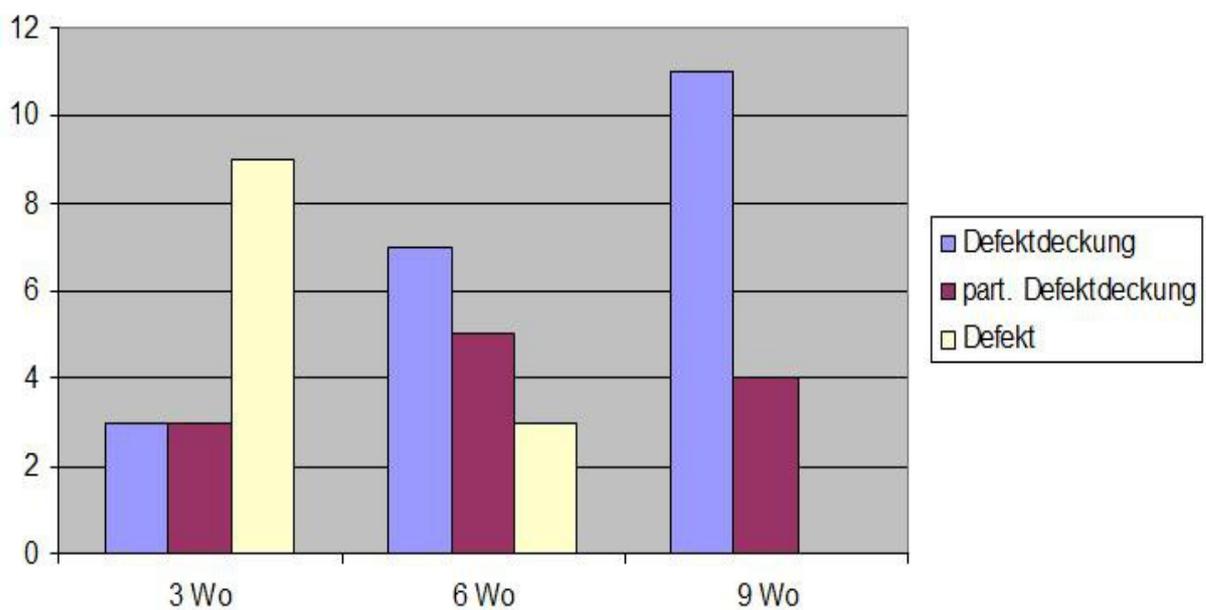
Die Tiere durften sich postoperativ ohne Einschränkung in ihren Käfigen bewegen. Dabei war zu beobachten, dass sie innerhalb der ersten drei Tage die frisch operierte, geschwollene und schmerzhafte Schulter schonten, im Anschluss jedoch kein Unterschied mehr im Belastungsverhalten zu sehen war.

#### 4.1.1 Makroskopische Auswertung

##### Makroskopie von Muskel und Sehne

Schon bei der Präparation zeigte sich bei allen Präparaten makroskopisch hypertrophes Narbengewebe der rupturierten Supraspinatussehne (s. Abbildung 21 / 22). Durch die Markierung des Sehnenstumpfes mittels Prolene - Faden konnte eine durchschnittliche Retraktion der Sehne von 3 mm evaluiert werden. Vom subacromialen Raum ausgehend, zogen sich Adhäsionen von Narbengewebe sowohl zum Acromion, dem Lig. coracoacromiale als auch zur verbliebenen Rotatorenmanschette.

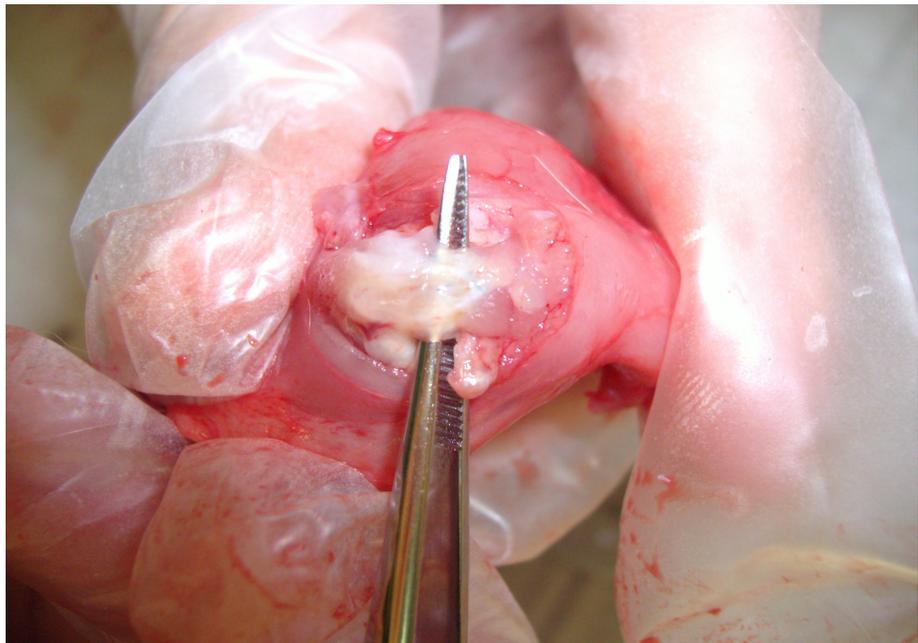
Makroskopisch fand sich in der Gruppe 1 (3 Wochen) mit 60 % (9 Tieren) die höchste Rate an persistierenden Defekten (s. Abbildung 23). In Korrelation mit der Zunahme des Zeitraumes nach der Sehnenabsetzung (3, 6 und 9 Wochen) ließ sich eine zunehmende Deckung des Defektes mit Narbengewebe beobachten (s. Abbildung 20). Sodass schließlich in Gruppe 2 (6 Wochen) 20 % (3 Tiere) und in Gruppe 3 noch 0 % einen persistierenden Defekt aufwiesen (s. Abbildung 24). Eine partielle Defektdeckung mit Narbengewebe fand sich bei 3 Tieren der Gruppe 1, bei 5 Tieren der Gruppe 2 und bei 3 Tieren in der Gruppe 3. Komplett gedeckt war der Defekt bei 3 Tieren der Gruppe 1, 7 Tieren in der Gruppe 2 und 11 Tieren in der Gruppe 3.



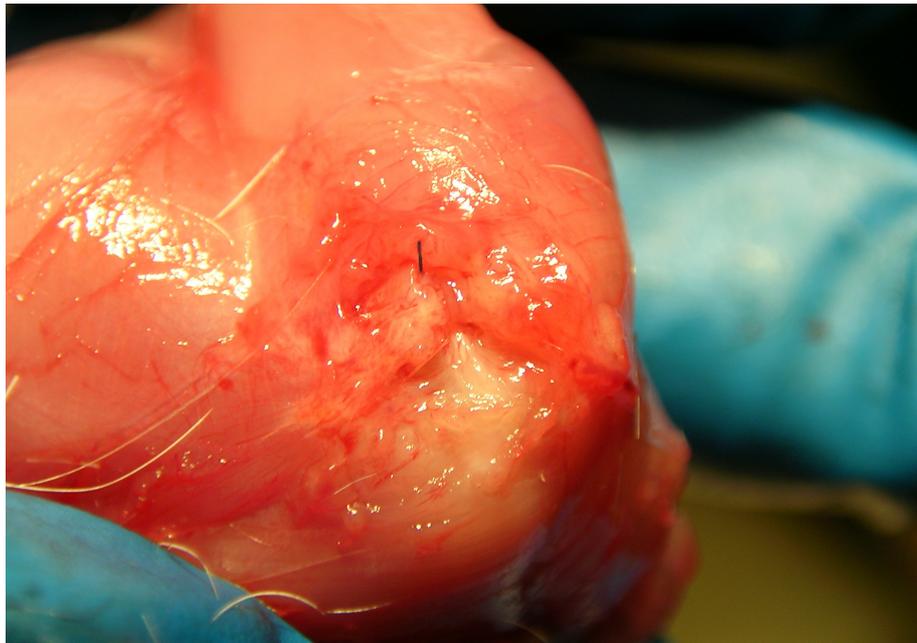
**Abbildung 19:** Defektdeckung



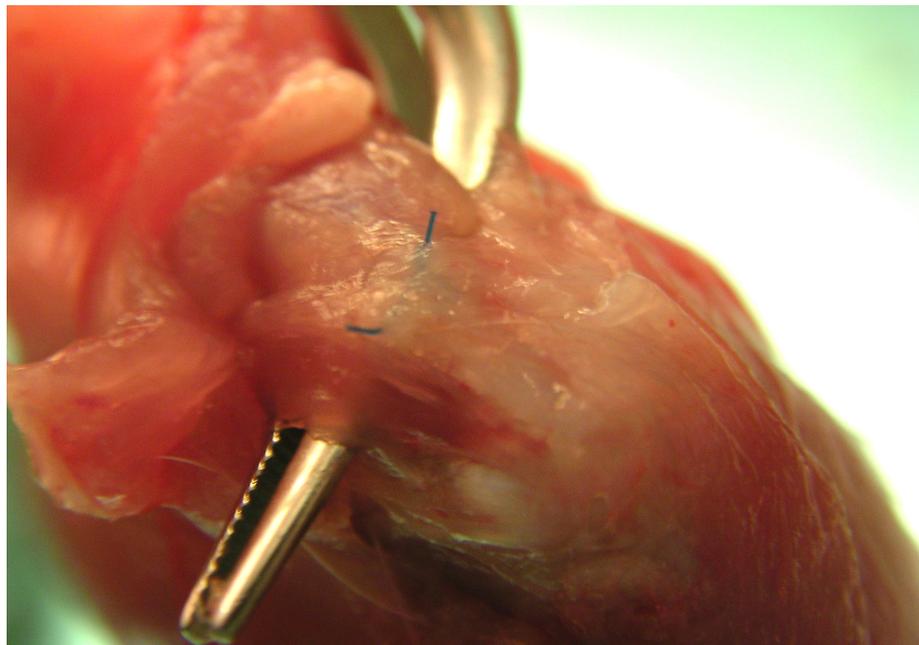
**Abbildung 20:** Makroskopisches Beispiel I - Hypertrophes Narbengewebe



**Abbildung 21:** Makroskopisches Beispiel II - Hypertrophes Narbengewebe



**Abbildung 22:** Defektdeckung nach 3 Wochen



**Abbildung 23:** Defektdeckung nach 9 Wochen

## 4.1.2 Histologische Auswertung

### Degeneration von Muskel und Sehne

In der Histologie zeigte der M. supraspinatus einen Massenverlust und eine frühe Degeneration mit Größen - und Mengenzunahme der Fasern im high - power field.

Die Atrophie des M. supraspinatus nahm im Zeitverlauf ab. So ließ die eingetretene Muskeldegeneration nach, je länger das postoperative Intervall nach Sehnenabsetzung war. Zeigten die 3 - wöchigen Tiere noch eine leichte Atrophie, fand sich 9 Wochen postoperativ ein Muskelstatus nahezu wie in der Kontrollgruppe (s. Abbildung 25).

Folglich konnte eine schnelle, aber vorübergehende Degeneration des Muskels nach Absetzung der Supraspinatussehne auffindig gemacht werden.

Die kontralaterale Kontrollgruppe zeigte keine Defekte.

Als histologisches Zeichen der Muskeldegeneration fand sich intermuskulär vermehrt fibrotisches Gewebe (s. Abbildung 26). Dies ließ sich in den Gruppen 1 und 2 (3 und 6 Wochen) beobachten, Gruppe 3 (9 Wochen) zeigte schließlich keinen Unterschied mehr zur Kontrollgruppe.

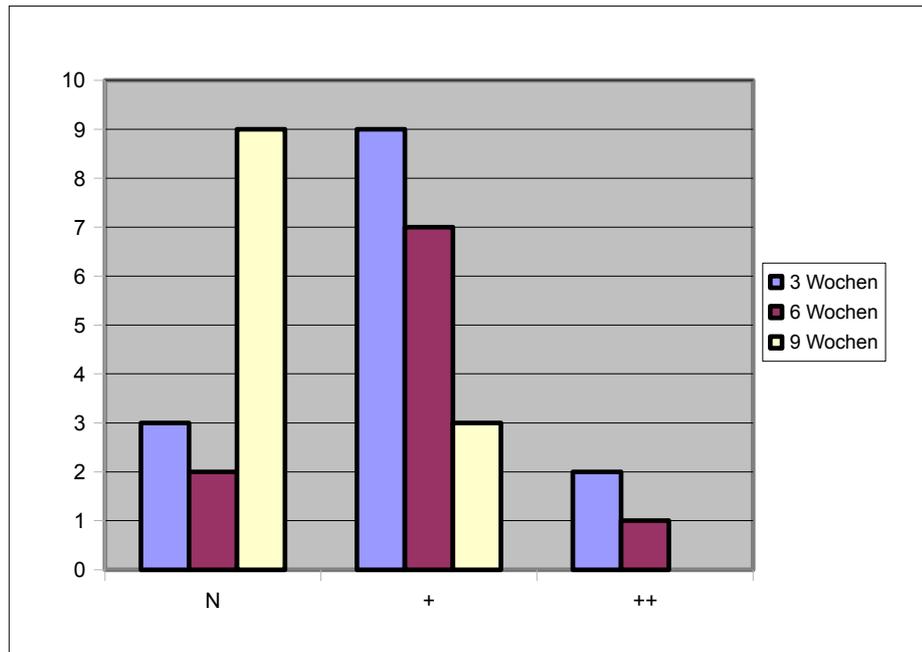
Dabei änderte sich die Zellform von runden Zellen in der Frühphase (3 und 6 Wochen) zu spindelförmigen Zellen nach 9 Wochen.

Die Degeneration der Sehne war in Gruppe 3 (9 Wochen) mit 12 Tieren am höchsten und stärksten ausgeprägt, in welcher 6 Tiere eine leichte (6+) und 6 Tiere eine starke (6++) Sehnendegeneration aufwiesen. In den Gruppen 1 und 2 (3 und 6 Wochen) zeigten jeweils 9 Tiere Zeichen einer Sehnendegeneration, welche jedoch geringer ausfiel (s. Abbildung 27). So zeigten nach 3 Wochen 7 Tiere eine leichte (7+) und nur 2 Tiere eine starke (2++) Degeneration. Nach 6 Wochen ließ sich bei 6 Tieren eine leichte (6+) und bei 3 Tieren eine starke (3++) Sehnendegeneration beobachten.

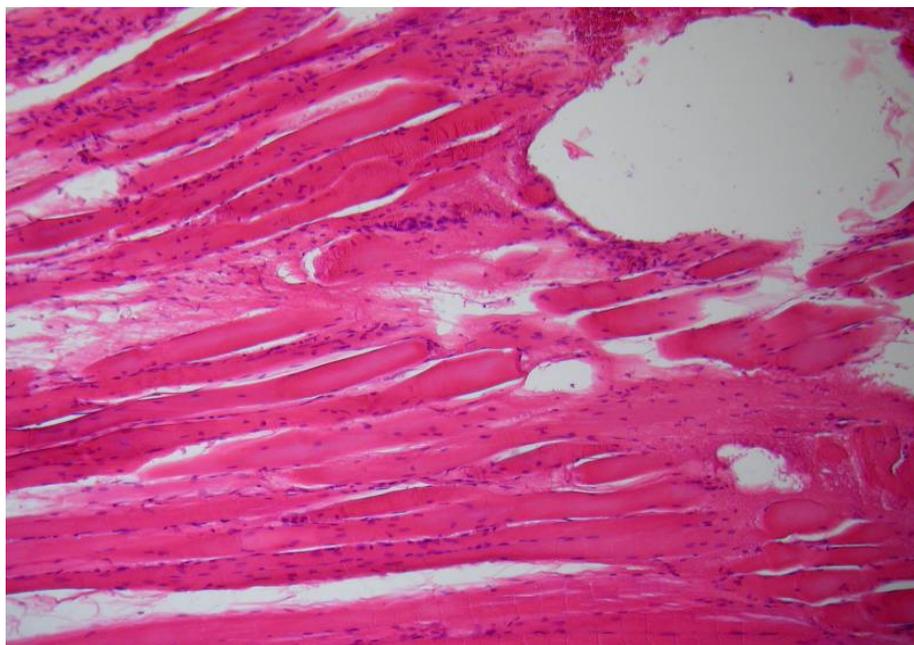
Nach 9 Wochen zeigte sich histologisch ein vollständiger Orientierungsverlust (s. Abbildung 28).

Die kontralaterale Kontrollgruppe zeigte keine Sehnendefekte.

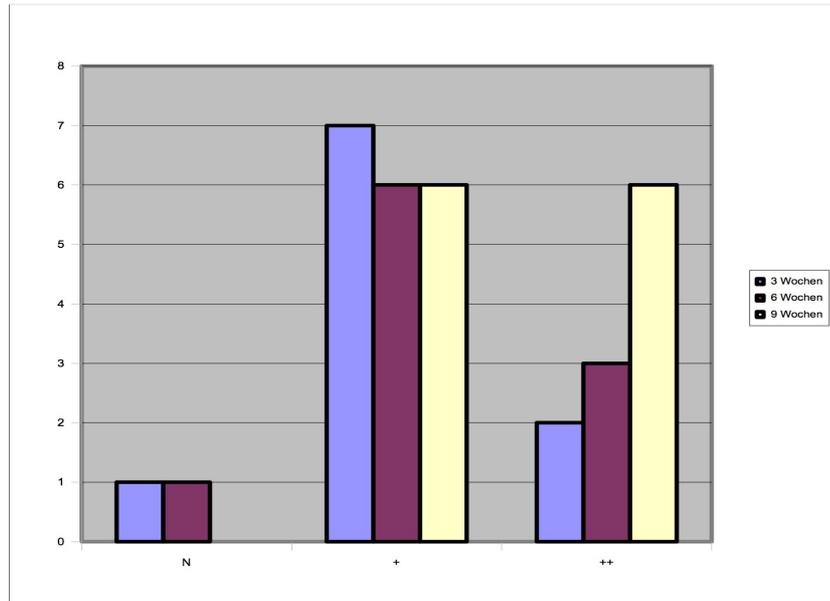
Es konnte eine Zunahme des Ausmaßes der Sehnendegeneration im Zeitverlauf beobachtet werden.



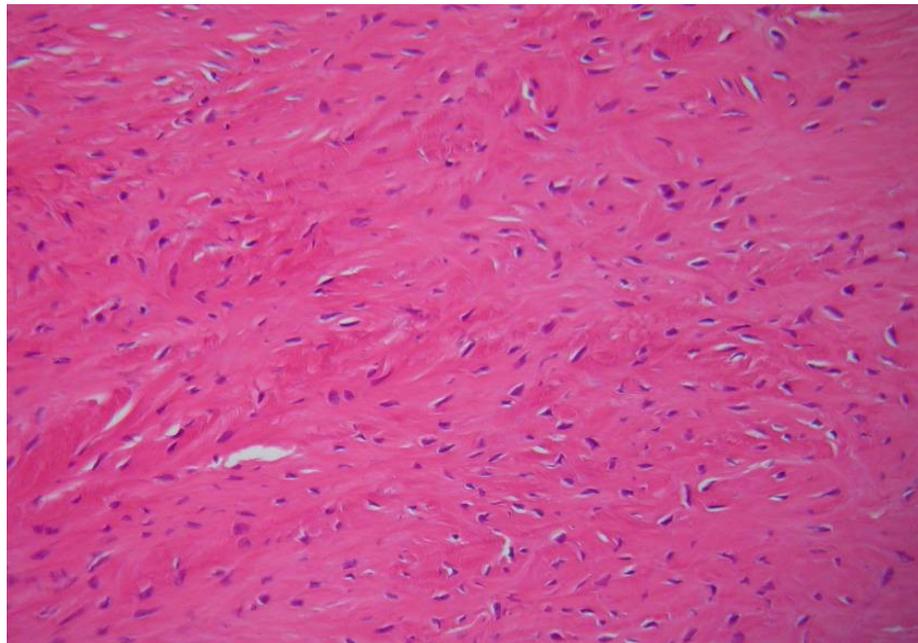
**Abbildung 24:** Degeneration - Muskel



**Abbildung 25:** Degeneration - Muskel (3 Wochen)



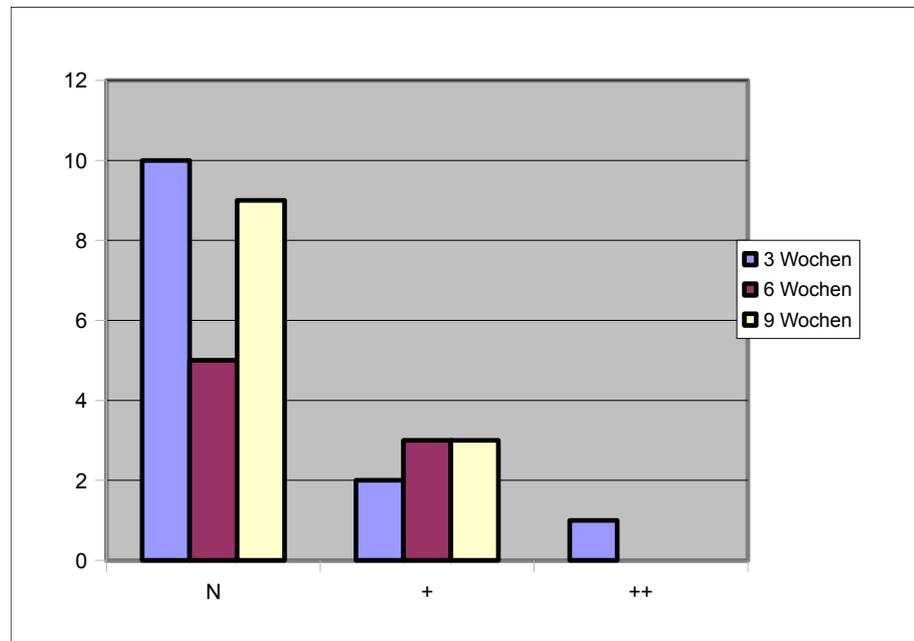
**Abbildung 26:** Degeneration - Sehne



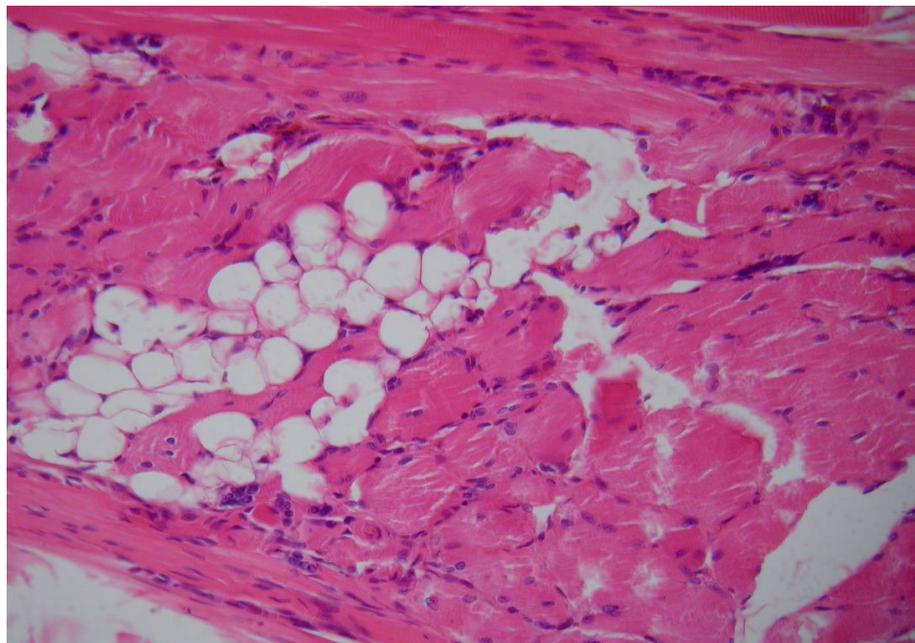
**Abbildung 27:** Sehnendegeneration mit vollständigem Orientierungsverlust (9 Wochen)

## Fettige Infiltration des Muskels

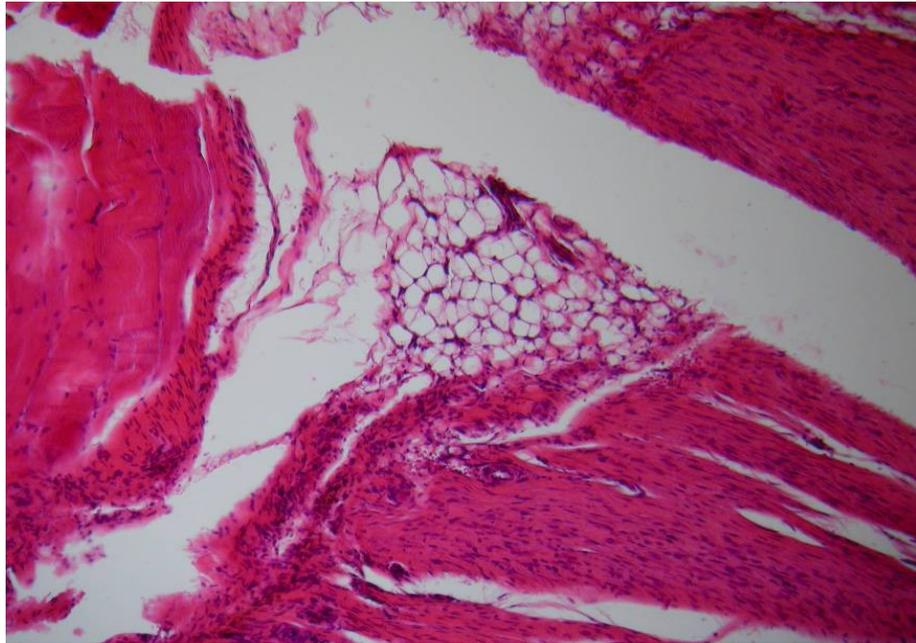
Interessanterweise war eine fettige Infiltration ohne spezielles Verteilungsmuster nur selten und ungeachtet des Zeitraumes nach Absetzung zu beobachten. Sie fand sich bei 3 Tieren pro Gruppe ohne spezifisches Verteilungsbild (s. Abbildung 29 - 32).



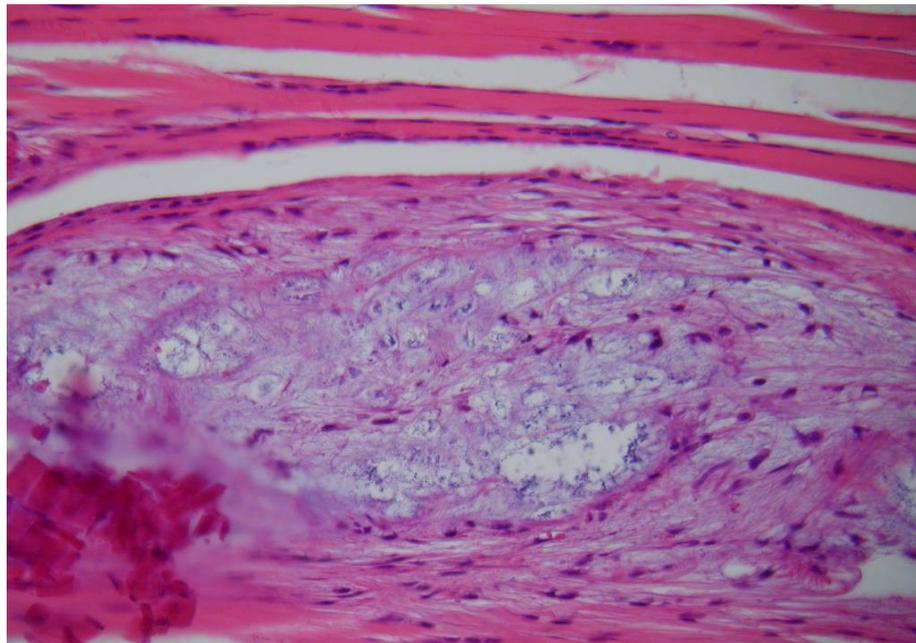
**Abbildung 28:** Fettige Infiltration



**Abbildung 29:** Mukoide Degeneration (3 Wochen)



**Abbildung 30:** Fett mit lipomatöser Atrophie des Muskels (6 Wochen)

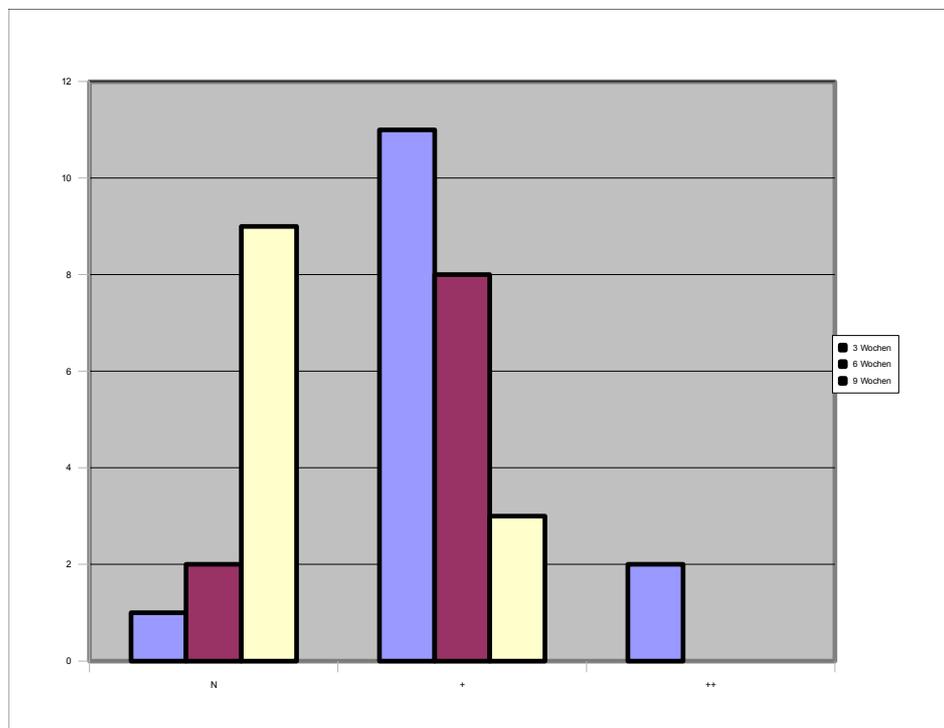


**Abbildung 31:** Mukoide Degeneration (6 Wochen)

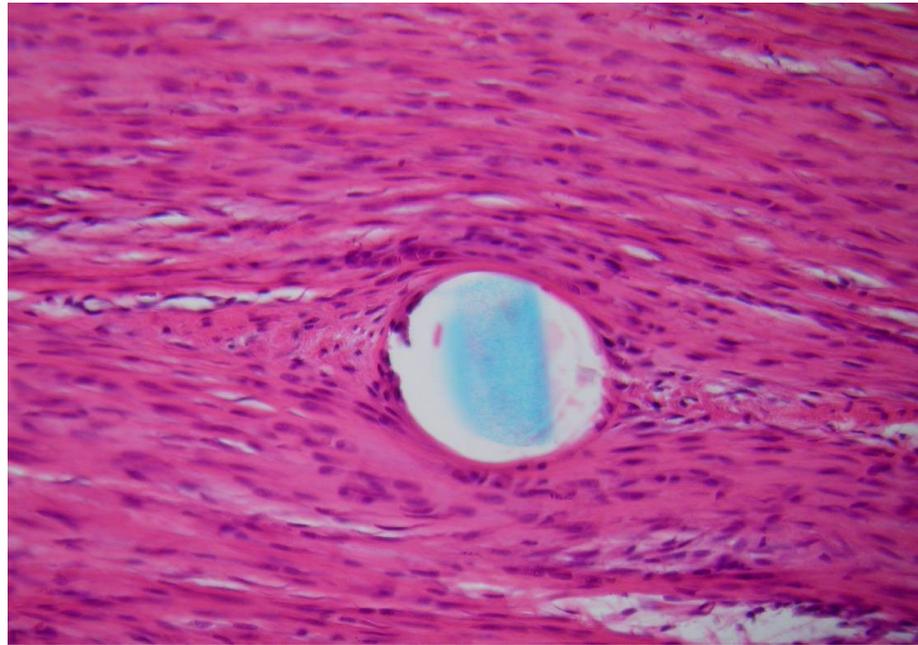
## Inflammationsgeschehen

Es ließen sich zwar Entzündungszellen nachweisen, doch keines der Tiere zeigte eine akute Entzündungsreaktion. Von den 3 - wöchigen Tieren wiesen 11 Tiere eine leichte (11+) und 2 Tiere eine starke (2++) Zunahme von chronischen Entzündungszellen im Sehnen - und Muskelgebiet auf.

Das Entzündungsgeschehen nahm nach 6 Wochen ab, sodass nur noch 8 Tiere eine leichte Zunahme der Entzündungszellen aufwiesen (8+) und keines eine starke (0++). Nach 9 Wochen zeigten schließlich nur noch 3 Tiere (3+/0++) eine erhöhte Anzahl von Entzündungszellen (s. Abbildung 33 - 34).



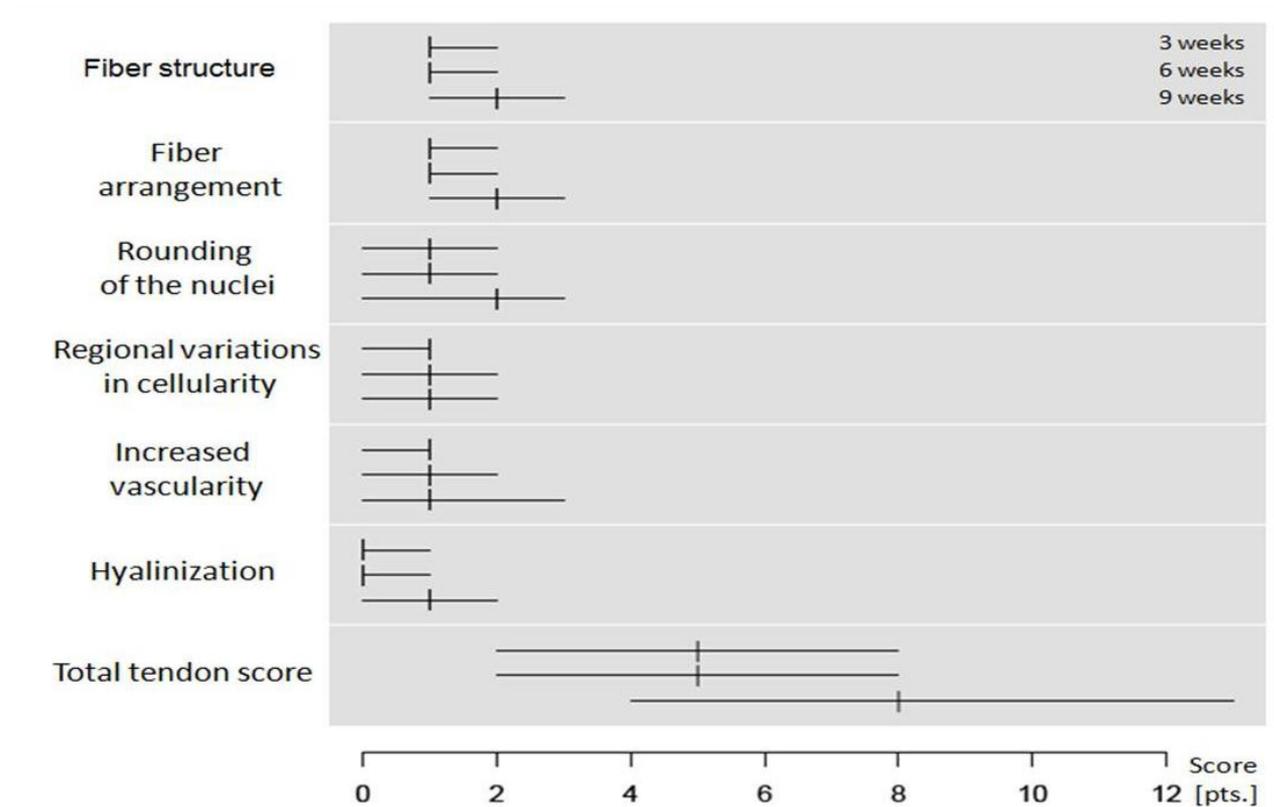
**Abbildung 32:** Inflammation



**Abbildung 33:** Riesenzelle mit inkorporiertem Faden in der Polarisation

### **MOVIN - Score Phase I**

Weiterhin beurteilten wir die Sehndegeneration mittels eines nach Maffulli et al. modifizierten MOVIN - Scores (s. Abbildung 35).<sup>96,105</sup> Dabei zogen wir Kriterien wie Faserstruktur, Faserausrichtung, Rundheit der Zellkerne, regionale Unterschiede der Zellen, verstärkte Vaskularität und Hyalinisierung heran, um letztlich festzustellen, dass die Gruppe der 9 - wöchigen Tiere eine höhere Gesamtsumme erzielte als die der 3 - oder 6 - wöchigen. Die statistische Evaluation des gesamten Sehnenscores zeigte keinen Unterschied zwischen den 3 - und 6 - wöchigen Tieren ( $p = 0,93$ ), aber einen hohen signifikanten Unterschied zwischen den 6 - und 9 - wöchigen Tieren ( $p < 0,01$ ).



**Abbildung 34:** MOVIN - Score Phase I (H. E. - Färbung): Subgruppen und Summenwert (Median und Range): 0 - normale; 1 - leichte; 2 - mittlere; 3 - starke Veränderung

## 4.2 Phase II

Der operative Eingriff wurde ohne Komplikationen mit Ausnahme eines Tieres toleriert. Eine Ratte verstarb aufgrund eines Narkosezwischenfalls.

Nach der Operation schonten die Tiere innerhalb der ersten fünf Tage ihren rechten Vorderlauf, im Anschluss konnte kein schonendes Verhalten mehr beobachtet werden.

### 4.2.1 Makroskopische Auswertung

#### Makroskopie von Muskel und Sehne

In Phase II stellte die Dislokationstendenz der Pumpen vom subacromialen Raum in die

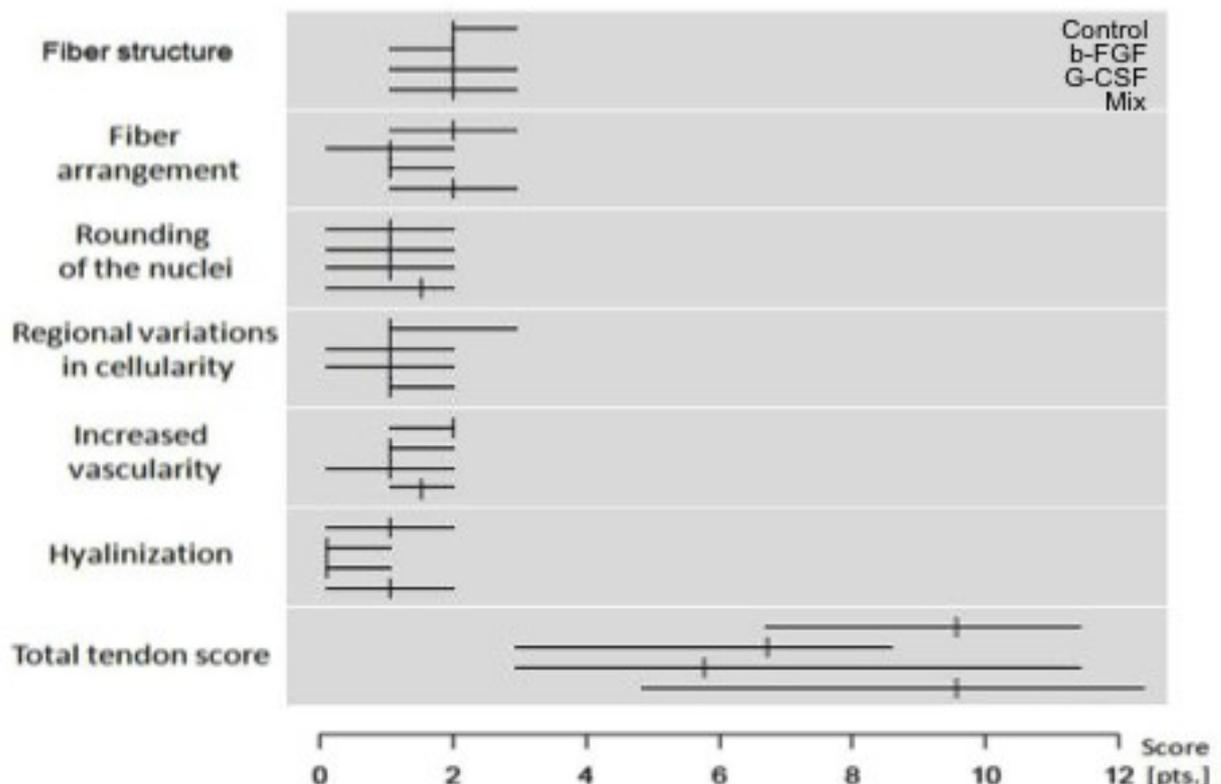
subdeltoide Bursa, in 33 % Prozent der Fälle, ein Problem dar. So fanden wir bei den Tieren der G - CSF - Gruppe 6 Dislokationen, in der b - FGF- und Mix - Gruppe 4 bzw. 5 Dislokationen, aufgrund Versagens der Operationsnaht.

Es zeigte sich keine Korrelation zwischen Operationszeitpunkt und Dislokationstendenz, demnach gab sich keine Lernkurve zu erkennen.

Die Versuchstiere mit dislozierten Pumpen wurden aus der Auswertung ausgeschlossen, da der Ort der Wachstumsfaktorfreisetzung und die Diffusionsreichweite nicht spezifiziert werden konnten. Nach 6 Wochen zeigte sich bei allen Tieren makroskopisch eine komplette Gewebedeckung des Defektes. Das entsprach somit dem in der Literatur beschriebenen Regenerationsverhalten des Rattengewebes.<sup>10</sup> Die Kontrollgruppe wies lediglich ein Tier mit partieller Defektdeckung auf.

Auch in Phase II zeigte sich bei der Präparation eine deutliche Hypertrophie des Sehngewebes im Sinne einer narbigen Heilung.

#### 4.2.2 Histologische Auswertung anhand des MOVIN-Scores



**Abbildung 35:** MOVIN - Score Phase II (H. E. - Färbung): Subgruppen und Summenwert (Median und Range): 0 - normale; 1 - leichte; 2 - mittlere; 3 - starke Veränderung

## **1) Fiber structure (Faserstruktur)**

B - FGF zeigte im Vergleich zu der 0 - Gruppe einen signifikant positiven Effekt in Bezug auf die Faserstruktur mit einem p -Wert von 0,04 und weniger pathologischen Veränderungen als die Kontrollgruppe.

Weitere signifikant positive Effekte konnten nicht verzeichnet werden (s. Tabellen 7 - 8).

Kontrolle	M	b - FGF	M	G - CSF	M	Kombi	M
2-3	2	1-2	2	1-3	2	1-3	2

**Tabelle 8:** „fiber structure“: Movin - Score

(M - Median; 0 - normale; 1 - leichte; 2 - mittlere; 3 - starke Veränderung)

<b>Fiber structure</b>			
	0	b - FGF	G - CSF
b - FGF	0.04 *	NA	NA
G - CSF	0.22	1	NA
Kombi	1	0.78	1

**Tabelle 9:** „fiber structure“: p - Werte der Wachstumsfaktoren im Vergleich, Signifikanzlevel:  $\leq 0,05$ , signifikante Ergebnisse sind mit \* gekennzeichnet, NA = not applicable

## **2) Fiber arrangement (Faseranordnung)**

Auch in der Faseranordnung zeigte die b - FGF - Gruppe im Vergleich zur 0 - Gruppe einen signifikant positiven Effekt bei einem p - Wert von 0,04.

Die G - CSF - Gruppe wies ebenfalls im Vergleich zur 0 - Gruppe einen signifikant positiven Effekt auf, bei einem p - Wert von 0,03, jedoch keinen im Vergleich zur b - FGF - Gruppe ( $p = 0,98$ ) (s. Tabellen 9 - 10).

Kontrolle	M	b - FGF	M	G - CSF	M	Kombi	M
1-3	2	0-2	1	1-2	1	1-3	2

**Tabelle 10:** „fiber arrangement“: Movin - Score

(M - Median; 0 - normale; 1 - leichte; 2 - mittlere; 3 - starke Veränderung)

<b>Fiber arrangement</b>			
	0	b - FGF	G - CSF
b - FGF	0.04 *	NA	NA
G - CSF	0.03 *	0.98	NA
Kombi	0.98	0.08	0.05

**Tabelle 11:** „fiber arrangement“: p - Werte der Wachstumsfaktoren im Vergleich, Signifikanzlevel:  $\leq 0,05$ , signifikante Ergebnisse sind mit \* gekennzeichnet, NA = not applicable

### **3) Rounding of the nuclei (Zellkernrundheit)**

Alle Vergleichsgruppen wiesen bei einem p - Wert von 1 keinen signifikant positiven Effekt auf (s. Tabellen 11 - 12).

Kontrolle	M	b - FGF	M	G - CSF	M	Kombi	M
0-2	1	0-2	1	0-2	1	0-2	1,5

**Tabelle 12:** „rounding of the nuclei“: Movin - Score

(M - Median; 0 - normale; 1 - leichte; 2 - mittlere; 3 - starke Veränderung)

<b>Rounding of the nuclei</b>			
	0	b - FGF	G - CSF
b - FGF	1	NA	NA
G - CSF	1	1	NA
Kombi	1	1	1

**Tabelle 13:** „rounding of the nuclei“: p - Werte der Wachstumsfaktoren im Vergleich, Signifikanzlevel:  $\leq 0,05$ , signifikante Ergebnisse sind mit \* gekennzeichnet, NA = not applicable

#### **4) Regional variations in cellularity (Regionale Unterschiede der Zellpopulationen)**

Auch in Bezug auf Unterschiede der Zellpopulationen wiesen alle Vergleichsgruppen keinen signifikant positiven Effekt auf (p - Werte > 0,05) (s. Tabellen 13 - 14).

Kontrolle	M	b - FGF	M	G - CSF	M	Kombi	M
1-3	1	0-2	1	0-2	1	1-2	1

**Tabelle 14:** „regional variations in cellularity“: Movin - Score

(M - Median; 0 - normale; 1 - leichte; 2 - mittlere; 3 - starke Veränderung)

<b>Regional variations in cellularity</b>			
	0	b - FGF	G - CSF
b - FGF	1	NA	NA
G - CSF	1	1	NA
Kombi	1	1	0.81

**Tabelle 15:** „regional variations in cellularity“: p - Werte der Wachstumsfaktoren im Vergleich, Signifikanzlevel:  $\leq 0,05$ , signifikante Ergebnisse sind mit \* gekennzeichnet, NA = not applicable

## **5) Increased vascularity (Verstärkte Vaskularität)**

Die Vergleichsgruppen wiesen keinen signifikant positiven Effekt in Bezug auf eine stärkere Vaskularität auf (p - Werte > 0,05, s. Tabellen 15 - 16).

Kontrolle	M	b - FGF	M	G - CSF	M	Kombi	M
1-2	2	1-2	1	0-2	1	1-2	1,5

**Tabelle 16:** „Increased vascularity“: Movin - Score

(M - Median; 0 - normale; 1 - leichte; 2 - mittlere; 3 - starke Veränderung)

<b>Increased vascularity</b>			
	0	b - FGF	G - CSF
b - FGF	0.19	NA	NA
G - CSF	0.22	1	NA
Kombi	1	0.22	0.22

**Tabelle 17:** „Increased vascularity“: p - Werte der Wachstumsfaktoren im Vergleich, Signifikanzlevel:  $\leq 0,05$ , signifikante Ergebnisse sind mit \* gekennzeichnet, NA = not applicable

## **6) Hyalinization (Hyalinisierung)**

Die p - Werte ( $> 0,05$ ) zeigten, dass kein signifikant positiver Effekt der Versuchsgruppen untereinander bezüglich der Hyalinisierung bestand (s. Tabellen 17 - 18).

Kontrolle	M	b - FGF	M	G - CSF	M	Kombi	M
1-2	1	0-1	0	0-1	0	0-2	1

**Tabelle 18:** „hyalinization“: Movin - Score

(M - Median; 0 - normale; 1 - leichte; 2 - mittlere; 3 - starke Veränderung)

<b>Hyalinization</b>			
	0	b - FGF	G - CSF
b - FGF	0.83	NA	NA
G - CSF	0.83	1	NA
Kombi	0.83	0.18	0.2

**Tabelle 19:** „hyalinization“: p - Werte der Wachstumsfaktoren im Vergleich, Signifikanzlevel:  $\leq 0,05$ , signifikante Ergebnisse sind mit \* gekennzeichnet, NA = not applicable

## **7) Total tendon score (Summenwert)**

Bei der Aufaddierung der Einzelwerte auf einer Skala von 0 bis 18 befand sich die Kontrollgruppe im Bereich von Wert 7 bis 12 mit einem Median von 10.

Die Werte der b - FGF - Gruppe lagen im Bereich von 3 bis 9 und besaßen den Medianwert 7.

Der Sumscore der G - CSF - Gruppe erstreckte sich von Rang 3 bis 12 der Skala mit einem Medianwert von 6. Die Werte der Mix - Gruppe befanden sich von Rang 5 bis 13 mit einem Medianwert von 10 (s. Tabellen 19 - 20).

Kontrolle	M	b - FGF	M	G - CSF	M	Kombi	M
7-12	10	3-9	7	3-12	6	5-13	10

**Tabelle 20:** „total tendon score“: Movin - Score

(M - Median; 0 - normale; 1 - leichte; 2 - mittlere; 3 - starke Veränderung)

Anhand des Summenwertes ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen der b - FGF - und der Kontrollgruppe ( $p = 0,03$ ), bei weniger stark ausgeprägten pathologischen Veränderungen der b - FGF - Gruppe.

Die G - CSF - Gruppe zeigte ebenfalls einen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe ( $p = 0,050$ ) mit geringer ausgeprägten pathologischen Veränderungen.

Zusätzlich zeigten beide Wachstumsfaktoren einen besseren Score im Vergleich zur Mix - Gruppe ( $p = 0,04$ ,  $p = 0,050$ ), jedoch keinen im Vergleich zur Kontrollgruppe ( $p = 1$ ).

Zwischen der G - CSF - und b - FGF - Gruppe war kein signifikanter Unterschied festzustellen ( $p = 1$ ).

"total tendon score"			
	0	b - FGF	G - CSF
b - FGF	0.03 *	NA	NA
G - CSF	0.050 *	1	NA
Kombi	1	0.04*	0.050 *

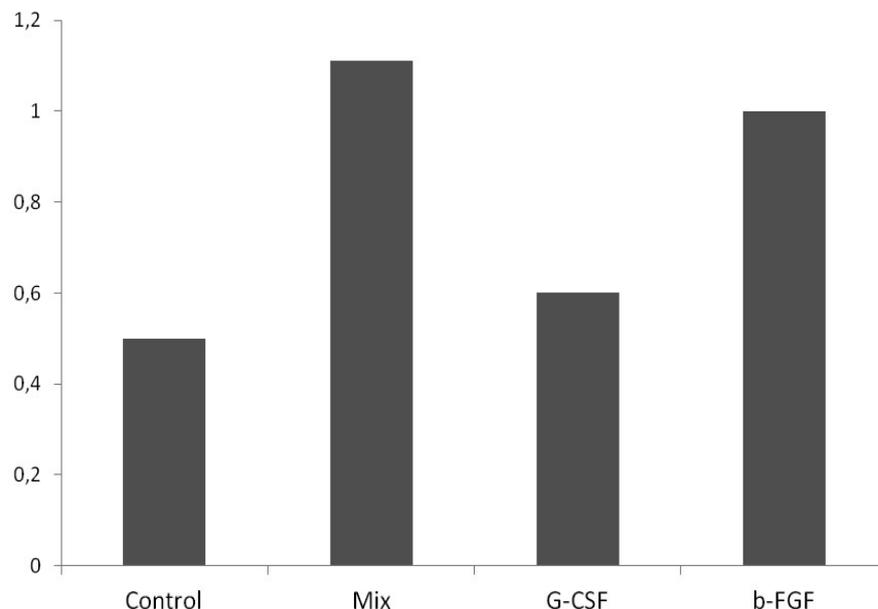
**Tabelle 21:** „total tendon score“: p - Werte der Wachstumsfaktoren im Vergleich, Signifikanzlevel:  $\leq 0,05$ , signifikante Ergebnisse sind mit \* gekennzeichnet, NA = not applicable

### **8) Kollagen I - und Kollagen III - Gehalt in der immunhistochemischen Färbung**

Die Kollagenfärbung zeigte keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf Kollagen I für alle Versuchsgruppen.

Kollagen III zeigte eine signifikante geringer ausfallende Färbung bei G - CSF ( $p = 0,03$ ), jedoch nicht für b - FGF ( $p = 0,08$ ).

Der Kollagen I / III - Index zeigte höhere Werte für b - FGF- und die Mix - Gruppe (1,0 und 1,1) und niedrigere für die G - CSF- und Kontrollgruppe 0,6 und 0,5 (s. Abbildung 37).



**Abbildung 36:** Semiquantitative Auswertung der Kollagenfärbung - Kollagen I / III - Index

### 4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Ergebnisse der Phase I zeigen, dass am Rattenmodell eine chronische Supraspinatusruptur generiert werden kann. Zur Simulation eines auf den Menschen übertragbaren Modells einer chronischen Supraspinatusruptur eignet sich das Intervall von 3 Wochen am besten, da vergleichbar zum humanen Muskel eine beginnende Atrophie zu beobachten ist, und die Sehne Zeichen der Degeneration aufweist. Es besteht zudem eine ausgeprägtere chronische Entzündungsreaktion ohne bindegewebige Defektdeckung. Im Gegensatz zum humanen Muskel zeigt sich keine wesentliche fettige Infiltration.

Zwar zeigten die 6 - wöchigen Tiere keinen signifikanten Unterschied zu den 3 - wöchigen Tieren, doch Nachteil war die bereits eingetretene Defektdeckung, welche uns veranlasste, den Zeitpunkt von 3 Wochen für die zweite Phase zu bevorzugen.

So zeigte die statistische Evaluation des gesamten Sehnenscores keinen Unterschied zwischen den 3 - und 6 - wöchigen Tieren ( $p = 0,93$ ), aber einen hoch signifikanten Unterschied zwischen den 6 - und 9 - wöchigen Tieren ( $p < 0,01$ ).

In Phase II ergibt sich ein signifikant verbessertes Remodelling der Sehne (Summenwert des MOVIN - Scores) bei kontinuierlicher Applikation der einzelnen Wachstumsfaktoren (b - FGF, G - CSF) im Vergleich zur Kontrollgruppe ( $p \leq 0,05$ ). Die Kombination der Wachstumsfaktoren zeigte jedoch keinen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe ( $p \leq 0,05$ ).

Anhand des Summenwertes des MOVIN - Scores ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Wachstumsfaktoren und der Kontroll - / Mix - Gruppe ( $p \leq 0,05$ ).

Zwischen b - FGF und G - CSF, sowie zwischen der Kontrolle und dem Mix, lässt sich hingegen kein signifikanter Unterschied festmachen.

Während die Kollagenfärbung für Kollagen I in allen Versuchsgruppen keine Signifikanzen zeigte, liess sich für Kollagen III eine signifikant geringer ausfallende Färbung in der G - CSF - Gruppe erheben. So fand sich auch ein höherer Kollagen I / III - Index in der b - FGF - und der Mix - Gruppe mit 1,0 und 1,1, während er sich in der G - CSF - und Kontrollgruppe auf 0,6 und 0,5 reduzierte.

## **5. Diskussion**

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die histologischen Veränderungen der Supraspinatussehne samt ihrem Muskel nach operativer Absetzung am Rattenmodell zu evaluieren. Diese Erkenntnisse sollten als Ausgangslage für die zweite Phase unserer Studie herangezogen werden, um eine mögliche Heilungsverbesserung mittels Wachstumsfaktoren zu evaluieren.

Die histologisch orientierten Untersuchungskriterien konnten nicht in einer retrospektiven klinischen Studie oder mittels Kadaverexperimenten untersucht werden, sondern erforderten eine in - vivo - Studie.

### **5.1 Diskussion der Phase I**

In dieser ersten Versuchsphase sollten die histologischen Veränderungen von Sehne und Muskel der Ratten nach Absetzung der Supraspinatussehne zu verschiedenen Zeitpunkten untersucht werden, um als Ansatzpunkt für Phase II zu gelten.

Wir nahmen an, dass im späten postinterventionellen Zeitintervall von 9 Wochen eine stärkere Regeneration von Muskel - und Sehnengewebe zu verzeichnen sein würde, als im Vergleich von 3 oder 6 Wochen.

Diese Hypothese konnte nur zum Teil bestätigt werden.

Um die geeignete Vergleichsmöglichkeit zur menschlichen Ausgangslage bei chronischer Rotatorenmanschettenruptur zu erhalten, zogen wir anhand unseres Rattenmodells die frühe Phase von 3 bis 6 Wochen heran, da diese den persistierenden chronischen Defekt mit starken histologischen Veränderungen wie Degeneration und Muskelatrophie am besten wiedergab, und die Sehnendegeneration in ihrem Anfangsstadium blieb (s. auch Abbildung 37).

Human rotator cuff	Rat rotator cuff		
	3 weeks	6 weeks	9 weeks
Muscle atrophy ++	++	++	+
Fatty infiltration +++	+	+	+
Tendon degeneration +++	+	+	++
Chronic inflammation +	+	+	0
Defect rate +++	+++	++	+

Assessment of subcategories (0 = normal, + = mild level, ++ = distinct level, +++ = high level)

**Abbildung 37:** Rotatorenmanschettenläsion bei Mensch und Ratte - histologische und makroskopische Veränderungen im Vergleich

(Quelle: 1. - 5. in absteigender Reihenfolge: 1. Hata et al., 2. Goutallier et al., 3. Longo et al., 4. Benson et al., 5. Yamaguchi et al.)<sup>70,64,90,15,166</sup>

### Defektdeckung

Unsere Ergebnisse der ersten Phase, das rasche Selbstheilungspotential des Rattengewebes, decken sich mit denen aus Carpenters et al. Studie, in welcher bei allen Versuchstieren nach 3 Wochen noch Defekte persistierten und eine Defektdeckung bei 3/8 der Tiere nach 6 Wochen und bei 2/8 der Tiere nach 9 Wochen zu beobachten war.<sup>28</sup>

Im Gegensatz zu unserer Studie unterschieden sie nicht in keine, partielle und komplette Defektdeckung.

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich vergleichbarerweise, nach anfänglicher Degeneration innerhalb des kurzen postoperativen Zeitraumes von 3 bis 6 Wochen, die partielle Heilung.

Bereits Walch et al. konstatierten, dass die humane Rotatorenmanschettenläsion nicht das schnelle Selbstheilungspotential des Rattengewebes aufweist.<sup>157</sup>

Eine Studie mit sonographischer Kontrolle von Yamaguchi et al. zeigte, dass bei 39 % aller Patienten mit bestehender Rotatorenmanschettenruptur nach 2,8 Jahren die Größe des Defekts unter alleiniger konservativer Therapie zugenommen hatte. Bei keinem Patienten fand sich eine Verkleinerung des Defektes.<sup>165</sup>

Somit ist das Heilungsverhalten der Rotatorenmanschette zwischen Mensch und Ratte nicht

komplett vergleichbar und unterscheidet sich im stärkeren Selbstheilungspotential des Rattengewebes.

Der Alterseffekt des jungen Versuchstieres, im Vergleich zum vorgeschädigten Gewebe bei der Supraspinatusruptur des älteren Patienten, ließ sich im Rattenmodell nicht simulieren.

### **MOVIN - Score**

In unserer Arbeit konnten in keiner der Versuchsgruppen pathologische Scores in den Kategorien „Rundheit der Zellkerne“, „Regionale Unterschiede in den Zellpopulationen“ und „Verstärkte Vaskularität“ beobachtet werden.

Dagegen decken sich die degenerativen Veränderungen in der „Hyalinisierung“, „Faserstruktur“ und „Faseranordnung“, mit denen der humanen Sehne in Longos et al. Studie.<sup>90</sup> Sie zogen in ihrer Studie zur histologischen Untersuchung von intakten und defekten humanen Supraspinatussehnen ebenfalls den MOVIN - Score heran und beschrieben einen in allen Subkategorien höheren Score der rupturierten Sehne im Gegensatz zur gesunden Sehne.<sup>90</sup>

Ebenso fanden sich bei Hashimoto et al. und Longo et al. Veränderungen der Faserstruktur.<sup>69,90</sup> Während in den tiefen Schichten eine Desorientierung von dünneren Fasern zu beobachten war, fiel in den mittleren Schichten eine hyaline und myxoide Degeneration auf, zusätzlich zeigten sich in 21% der Fälle Knorpelmetaplasien.<sup>69</sup>

Das Rattenmodell von Galatz et al. zeigte eine Kapillarproliferation ab dem dritten Tag, mit einem Peak am zehnten Tag.<sup>53</sup>

Auch in frühesten Studien, so bei Wilson et al., zeigte sich eine zunehmende Hyalinisierung mit Verlust des welligen Musters der Kollagenfasern.<sup>161</sup>

Im Tiermodell von Gimbel et al. ließ sich nach einer anfänglichen ungeordneten Faserorientierung eine Regeneration derselben ab der vierten Woche beobachten.<sup>60</sup>

In unserem Falle zeigte sich keine Reorientierung der Faserstrukturen, stattdessen nahmen die ungeordnete Faserorientierung und die myxoide Degeneration im gesamten Zeitverlauf zu.

## **Inflammation**

In der Literatur wird nach Sehnenabsetzung im Tiermodell eine Zunahme der Entzündungszellen beschrieben.

So finden sich bei Soslowky et al. und Perry et al. bei prolongierter Sehnenbeanspruchung erhöhte Level von Entzündungsparametern, bei Galatz et al. als initiales Geschehen innerhalb der ersten 10 Tage.<sup>143,117,52</sup>

In unserer Studie konnten wir ebenfalls einen leichten anfänglichen Anstieg der Entzündungszellen in Sehne und umliegendem Gewebe nach 3 Wochen erheben, welcher im weiteren Zeitverlauf abnahm und sich nach 9 Wochen wieder nahe gehend normalisierte.

## **Regeneration und fettige Infiltration**

Wir konnten beobachten, dass das Wiedererlangen eines normalen Muskelstatus bei der Ratte viel schneller als beim Menschen erfolgt.

Es wurde keine zeitabhängige Korrelation der Muskelinfiltration durch Fett oder fibrotisches Gewebe gefunden.

Das scheint insofern plausibel, als in der Literatur eine Speziesabhängigkeit im Regenerationsverhalten beschrieben ist, die nicht komplett vergleichbar mit der humanen Situation ist. So sind fettige Infiltration und Zunahme des fibrotischen Gewebes bei chronischer Rotatorenmanschettenläsion typisch humane Reaktionen, die sich in unserem Tiermodell nicht beobachten ließen.<sup>58</sup>

Für eine fettige Infiltration des Muskels hätte der Sehnenstumpf versiegelt werden müssen, um eine Ausbildung von Adhäsionen zu vermeiden. Da wir derart jedoch nicht das Modell der Sehnendegeneration erhalten hätten, entschieden wir uns für die reine Abtrennung.

Nach Goutallier et al. bleibt die fettige Infiltration des menschlichen Muskels auch nach Deckung des Rotatorenmanschettendefektes irreversibel bestehen.<sup>64</sup>

Während auch Coleman et al. bei Schafen eine signifikante fettige Infiltration fanden, beobachteten Fabis et al. beim Kaninchen keine derartigen Veränderungen.<sup>35,44</sup>

Im Rattenmodell lässt sich nach Farshad et al. histologisch keine signifikante fettige Infiltration des Muskels bei chronischer Retraktion nach Supraspinatustenotomie beobachten.<sup>45</sup>

So auch bei Galatz et al., wo nach Sehnenabsetzung außer einer intramuskulären Kollagenzunahme in keinem der postoperativen Zeitintervalle ein signifikanter Unterschied in Bezug auf fettige Infiltration im Vergleich mit der Kontrollgruppe festzustellen war.<sup>52</sup>

Unsere Ergebnisse decken sich mit denen von Barton et al. In ihrer Studie wurde ebenfalls der M. supraspinatus von Ratten nach operativer Absetzung untersucht. Auch dort fand man die stärkste Muskelatrophie nach 4 Wochen und zu den darauffolgenden Untersuchungszeitpunkten zunehmende Regenerationszustände bei Abnahme des fibrotischen Gewebes.<sup>10</sup>

Den höchsten Atrophiegrad des Muskels fanden wir bei den 3 - wöchigen Tieren, der anschließend in den späteren Zeitintervallen immer mehr abnahm.

Dass die chronische Rotatorenmanschettenruptur des Menschen mit Verlust der Muskelmasse einhergeht, wird unter anderem in der MRT - Studie von Thomazeau et al. beschrieben, jedoch existieren über Muskelbiopsien der menschlichen Rotatorenmanschette bisher wenige Daten.<sup>150</sup> So sei die Muskelatrophie beim Menschen z. T. reversibel, doch beträgt der Prozess der Regeneration mindestens ein halbes Jahr.<sup>49,70</sup>

## **5.2 Diskussion der Phase II**

Für die zweite Versuchsphase nahmen wir an, dass das Sehnenheilungsverhalten nach Absetzung der Supraspinatussehne und anschließender Augmentation von b - FGF, G - CSF und der Kombination beider einen positiven Effekt auf die histologische Sehnenqualität erzielen würde. Die einzelne Zuführung der Wachstumsfaktoren bestätigte unsere Hypothese, die Kombination beider Wachstumsfaktoren zeigte jedoch keinen signifikant positiven Effekt. Es zeigte sich histologisch ein Shift von Kollagen III zu Kollagen I in der b - FGF- und Mix - Gruppe, mit einer erhöhten Kollagen I / III - Ratio.

Mit 95 % stellt Kollagen I die größte Matrixkomponente aller Kollageneinheiten in der Sehne dar. Aufgrund seiner parallelen Faserorientierung leistet es einen großen Beitrag zum Strukturhalt der Sehne.<sup>125,140</sup> Kollagen III nimmt mit ca. 5 % einen geringen Teil der extrazellulären Matrix ein.<sup>126,127</sup> Es wird in der Wundheilung gebildet und zeichnet sich durch retikuläre Fibrillen kleinen Durchmessers aus, welche sich netzartig und ungeordnet aneinander lagern.

Diese erhöhte Kollagen I / III - Ratio unserer zweiten Phase weist auf ein Remodelling der Sehne und damit der Defektdeckung hin.

Studien zeigen jedoch, dass neben der Kollagenverteilung auch die Faseranordnung eine wichtige Rolle für die biomechanische Stabilität spielt und somit die Kollagenverteilung allein nicht zur Beurteilung der Reißfestigkeit ausreicht.<sup>138</sup>

### **5.2.1 Andere Methoden zur Verbesserung der Sehnenheilung in der Literatur**

In der Literatur finden sich unterschiedliche Methoden, die das klinische Outcome nach Rotatorenmanschettenrekonstruktion verbessern sollen.<sup>25,118</sup>

#### **1) Allografts, Autografts:**

##### **Azelluläre humane Matrix (GJA, Graftjacket Matrix)**

Aseptisches, azelluläres dermales Gewebe des Menschen soll geschädigtes Kollagengewebe während der Remodellingphase unterstützen.

Barber et al. verzeichneten in humanen Kadaverstudien durch Augmentation mit Graftjacket verbesserte biomechanische Eigenschaften der Rotatorenmanschette.<sup>9</sup> In klinischen Studien zeigte eine Graftjacket - Applikation jedoch im 1 - Jahres - Follow - Up neben guten Ergebnissen im UCLA - Shoulder - Score auch radiologisches Versagen.<sup>40</sup>

### **Plättchenreiches Plasma (PRP)**

Blutplättchen beinhalten wichtige Wachstumsfaktoren wie PDGF, TGF - b, VEGF und IGF und böten somit eine attraktive Option bei der Augmentation von Rotatorenmanschettendefekten.<sup>53</sup>

PRP besitzt als Plasma eine höhere Plättchenkonzentration als physiologischerweise gegeben und zeigte in Studien eine verstärkte Kollagenexpression, Proliferation und Aktivierung von kultivierten Sehnenzellen bei gleichzeitiger VEGF - Produktion.<sup>2,3,106,107,136</sup>

Die Vorteile dieser Verfahren sind das niedrige Risikoprofil, die leichte Applikation und das Umgehen pharmakologischer Regulationen, doch ein positiver Effekt bleibt in Langzeit - Follow - Ups aus.<sup>29,119</sup>

Da trotz Reinigungsprozessen DNA - Bestandteile im PRP bestehen bleiben, werden Entzündungs - und Fremdkörperreaktionen begünstigt.<sup>135,155</sup> Weiterhin erweist sich als nachteilig, dass keine kontinuierlichen, sondern nur wiederholte Injektionen postoperativ möglich sind.

## **Mesenchymale Stammzellen (MSC)**

Hierbei soll die Fähigkeit von MSC genutzt werden, die Reparatur menschlicher Sehnen zu fördern und über die Sekretion verschiedenster Zytokine antiinflammatorisch zu wirken.<sup>100,128</sup> Im Folgenden seien die aktuellsten Studien zur Sehnenheilung mittels Stammzellapplikation tabellarisch aufgelistet:

*Summary of Recent Data of Mesenchymal In Vitro and In Vivo Investigations*

Study	Model	Histological Data	Biomechanical Data
Young et al.	Rabbit Achilles tendon	Collagen bundles more organized and had larger cross-sectional area in MSC group	Group treated with MSCs had greater stress and strain properties at 4, 8, and 12 w
Chong et al.	Rabbit Achilles tendon	Collagen fibers denser and more organized in MSC group	Early greater increase in modulus. Similar properties at 6 and 12 w
Murphy et al.	Goat meniscus	Regeneration of meniscus histologically indistinguishable from native meniscus in MSC group	
Ouyang et al.	Tendon allograft	MSCs migrate through allograft and acquire phenotype resembling tenocytes	
Lim et al.	Rabbit ACL	MSC group developed fibrocartilagenous bone-tendon insertion resembling native ACL insertion	Higher load to failure in MSC treated group
Juncosa-Melvin et al.	Rabbit patellar tendon		Mechanical stimulation caused 2.5-fold increase in linear stiffness in MSC-treated tendons
Dressler et al.	Rabbit patellar tendon		No difference in maximum stress or modulus in tendon treated with MSCs from geriatric vs. younger rabbit

**Abbildung 38:** Zusammenfassende Übersicht zu Literaturdaten über mesenchymale Stammzellen (Rios et al., Seite 5)<sup>128</sup>

## **2) Xenografts:**

Xenografts, u. a. in Form von Rinderhaut oder dermalem Schweinekollagen, haben sich im klinischen Alltag nicht durchsetzen können, da Entzündungs- und Fremdkörperreaktionen sowie mangelnde funktionelle Verbesserung und verbliebene Defekte in Kontrolluntersuchungen beobachtet wurden.<sup>7,8,9,13,33,72,81,95,98,118,137,139,142,155</sup>

## **3) Synthetica:**

Hier werden synthetische Materialien zur Überbrückung des Defekts herangezogen. Fasernetze aus gewebtem Polyester, wie Mersilennetze, sind nicht abbaubar und zeichnen

sich durch eine hohe Dehnkraft aus.

Doch im prospektiven Studienversuch an 41 Patienten über 43 Monate bei Audenaert et al. wurden nach Rotatorenmanschettenmassenruptur nichtresorbierbare Patches zur Defektdeckung herangezogen. Es zeigte sich zwar eine verbesserte Bewegungsreichweite („range of motion“) sowie eine Schmerzerleichterung, jedoch fand sich im letzten Follow - Up bei 3 Patienten eine erneute Ruptur zwischen Patch und Muskel - Sehnen - Einheit.<sup>6</sup>

Als weiterer Studienversuch mittels Synthetica soll noch die Untersuchung von Ozaki et al. erwähnt werden.<sup>115</sup> In dieser prospektiven Studie anhand von 25 Patienten wurde als Therapie - Option der chronischen Rotatorenmanschettenmassenläsion Teflon (PTFE) als synthetisches Defektdeckungsmaterial gewählt. Es zeigte sich zwar auch hier eine Verbesserung der „range of motion“ sowie eine deutliche Schmerzreduktion, jedoch traten im weiteren Untersuchungsverlauf Fremdkörperreaktionen auf, die durch Einwachsen der PTFE - Fasern ins umliegende Gewebe ausgelöst worden waren.

All diese Verfahren lassen erkennen, dass Versuche, die anatomischen Verhältnisse nach Rotatorenmanschettenläsion durch verschiedenste Augmentations - oder Deckungsversuche günstig zu beeinflussen, bis dato oft nur begrenzt erfolgreich sind und dass die hohen Komplikationsraten das Outcome langfristig ungenügend erscheinen lassen. Derartige Verfahren haben sich im klinischen Alltag, aufgrund ihrer geringen Einheilungsrate, biomechanischer Ungenügenderheit sowie ihrer begrenzten Haltbarkeit, nicht durchsetzen können.

Weiterhin war in unserer Studie ein Gebrauch von PRP - oder MSC - Lösungen nicht möglich, da die erforderliche Zusammensetzung von PRP - oder Wachstumsfaktoren in einer passenden Pufferlösung nicht bekannt ist und eine MSC - Applikation via Osmosepumpen nicht durchführbar ist.<sup>99,101,129</sup>

## 5.2.2 Wachstumsfaktorenapplikation zur Verbesserung der Sehnenheilung in der Literatur

Als Ausgangspunkt für unsere Arbeit dienten zahlreiche Grundlagenstudien über Freisetzung, physiologisches Vorkommen und Wirkung von Wachstumsfaktoren, insbesondere bei Heilungsprozessen, welche in den letzten Jahren Gegenstand zahlreicher Veröffentlichungen waren.

Frühere Studien nahmen sich bereits erster Theorien zur Verbesserung der Sehnenheilung an.<sup>1,94,124</sup>

Mazzocca et al. näherten sich dem Problem durch Anbindung von chemotaxisfördernden Komponenten oder direktes Einbinden von Wachstumsfaktoren in die Operationsnaht, um die körpereigenen Zellen zur Unterstützung des Heilungsprozesses anzuregen.<sup>99</sup>

Eine der ersten Tierstudien zu Wachstumsfaktoren veröffentlichten Jann et al, in welcher man zeigte, dass Operationsnähte als Gerüste für einwandernde Tenoblasten dienen können, getriggert durch angelagerte Wachstumsfaktoren, worauf dann auch weitere Studienreihen folgten.<sup>80,39,99</sup>

So verzeichneten Rodeo et al. bei mit osteoinduktiven Wachstumsfaktoren behandelten Schafen nach induzierter Infraspinatusruptur und anschließender Rekonstruktion, eine robuste Zone zwischen Knochen und Sehne in der Histologie, jedoch war diese biomechanisch schlechterer Qualität als die gesunde Sehne und zeigte lediglich ca. 31 % der „failure loads“ gesunder Sehnen in der biomechanischen Testung.<sup>129</sup>

Nach Gospodarowicz et al. kann man davon ausgehen, dass FGF schon an frühen Entwicklungsprozessen mitwirkt und die Proliferation von mesenchymalen Zellen der ausknospenden Extremitäten unterstützt.<sup>63</sup>

Duffy et al. waren die ersten, die zeigten, dass b - FGF physiologischerweise in gesunden intrasynovialen Beugesehnen vorhanden ist.<sup>41</sup>

Auch zur Freisetzung von Wachstumsfaktoren während der Sehnenheilung finden sich bereits einige Studienergebnisse.<sup>92,104,113</sup> Dabei zeigen sich vereinzelte positive Effekte von Wachstumsfaktoren, jedoch existieren keine einschneidenden Ergebnisse eines bestimmten Wachstumsfaktors.

Kobayashi et al. postulierten, dass sich in der Sehnenheilung ein b - FGF - Peak zwischen Tag 7 bis 9 fände. Sie beobachteten im Kaninchenmodell unter b - FGF - Augmentation durch Pellets bessere Kollagenorientierung nach 6 - 24 Wochen sowie eine verstärkte

Neovaskularisierung.<sup>83,84</sup>

Chan et al. und Duffy et al. fanden in der postoperativen Heilungsperiode von Tag 1 bis 56 (8 Wochen) erhöhte FGF - Level in Flexorsehnen.<sup>30,41</sup>

Chan et al. machten sich die Eigenschaften von b - FGF zunutze und erzielten eine verbesserte Wundheilung, nachdem in vitro Patellarsehnen von Ratten exogen mit b - FGF augmentiert worden waren.<sup>30</sup>

Duffy et al. zeigten, dass unter b - FGF - Injektion in heilenden Patellarsehnen von Kaninchen die Kollagen - III - Produktion und Zellproliferation anstieg.<sup>41</sup>

Weiterführend finden sich bei Otsuka et al. Forschungsergebnisse zum Kaninchenmodell, in welchem die umgebende Knochenmatrix bei Defekten FGF - 2 in die Defekthöhle zur Knorpelreparatur freisetzt.<sup>114</sup>

Weitere Studienergebnisse zum Rattenmodell bieten Nakamura et al.<sup>108</sup> Sie konnten nachweisen, dass eine lokale Applikation von FGF - 2 im Knochen eine Zunahme des Knochenvolumens auf der applizierten Seite bewirkte.

Fukui et al. versahen im Kaninchenmodell Defekte des medialen Kollateralbandes (MCL) mit unterschiedlichen Einzeldosen von b - FGF, welche in Fibrin - Gel eingeschlossen waren.<sup>47</sup> Die mittlere Dosis (1 µg b - FGF) zeigte Regenerationsgewebe und eine schnellere Reorganisation des Defektes.

Im Modell von Majewski et al. zeigten Achillessehnen von Ratten nach Behandlung mit ACS (Autologous Conditioned Serum) vermehrt Granulationsgewebe, einen größeren Durchmesser, sowie einen Wechsel von Kollagen III zu Kollagen I, welches die stärkere mechanische Kraft besitzt.<sup>97</sup>

Im Rattenmodell von Ide et al. unterstützte ebenfalls eine lokale Applikation von b - FGF das Heilungsverhalten der akuten Supraspinatusruptur, sodass schließlich nach 6 und 12 Wochen die b - FGF - Versuchstiere in der biomechanischen Testung eine reißfestere Sehnen - zu - Knochen - Insertion als die Vergleichsgruppe zeigten. Daraus schlussfolgernd konstatierten sie, dass schon eine lokale Applikation von b - FGF im Tiermodell das Heilungspotential bei Supraspinatusrupturen unterstützen könne.<sup>74</sup>

Es ist festzustellen, dass vorherige Studienmodelle bei Verwendung von b - FGF mit einer Einmaldosis des Wachstumsfaktors zum Zeitpunkt der Operation ansetzten.

Vor unserer Studie gewährleisteten lediglich Sasaki et al. eine kontinuierliche Freisetzung von Wachstumsfaktoren.<sup>133</sup>

Sie bieten Ergebnisse unter Verwendung von G - CSF. In einem Hundemodell konnten sie,

nach ACL - Rekonstruktion und anschließender G - CSF Applikation in Form von Hydrogelen, eine Zunahme von Mikrogefäßen und eine gute Knochen - Sehnen - Integration feststellen, die auch in der biomechanischen Testung im Vergleich zur Kontrollgruppe überzeugte.

Demnach veranlasste G - CSF eine Osteogenese in der Nähe der unreifen Knochen - Sehnen - Integration, aufgrund seiner Potenz die Proliferation von Knochenstammzellen und Endothelzellen zu fördern.<sup>16,26,37,110</sup>

### 5.3 Versuchsaufbau

Für die Durchführung der Versuche wurde von uns das vorliegende Tiermodell konzipiert, welches für Untersuchungen des Sehnenheilungsverhaltens der Rotatorenmanschette geeignet schien. Die Rattenschulter darf in diesem Zusammenhang nach Soslowky et al., welche 1996 die Ratte als Modell für akute Rotatorenmanschettenläsionen etablierten, auch als ein geeignetes standardisiertes Tiermodell für die Untersuchung des Heilungsverhaltens bei chronischen Rotatorenmanschettenläsionen gelten.<sup>143</sup>

Und so bietet die Gegebenheit, dass die Anatomie der Rotatorenmanschette der Ratte der des Menschen sehr nahe kommt, eine gute Basis für unsere Arbeit.

Die Vorteile des Versuchsaufbaus liegen in der einfachen Handhabung der artgerechten prä- und postoperativen Versorgung und Pflege der Versuchstiere. Der Versuchsaufbau mit festgesetzten Zeitpunkten bietet eine klare Struktur, Reproduzierbarkeit und somit auch Vergleichbarkeit, insbesondere für weiterführende Studien mit anderen Applikationsarten von Wachstumsfaktoren.

Doch es bleibt hervorzuheben, dass die humane Rotatorenmanschettensehne nicht in der Lage ist, nach partiellen oder kompletten Rupturen von selbst zu heilen, wie es bei der Ratte zu beobachten ist. Denn hinsichtlich fettig infiltrierter Sehnensubstanz und des Selbstheilungsvermögens, ist der M. supraspinatus der Ratte nicht dem des Menschen gleichzusetzen.<sup>38,157</sup>

Die Synovialflüssigkeit des Menschen könnte dabei einen wichtigen Grund für das schlechtere Selbstheilungsverhalten darstellen.

Die Wahl der verwendeten Wachstumsfaktoren fiel auf G - CSF und b - FGF, aufgrund ihrer positiven Effekte in Bezug auf das Heilungsvermögen in Tierstudien, der guten Verfügbarkeit und klinischen Erfahrung und somit der Option für einen schnellen Transfer in den klinischen Alltag.

Unsere standardisierte kontinuierliche subacromiale Freigabe der Wachstumsfaktoren stützte sich auf Osmosepumpen, welche ausführlich in pharmakologischen Laboratorien getestet wurden.

Im Vergleich zu anderen Studien zogen wir zwei Wachstumsfaktoren mit unterschiedlichen Wirkungsweisen heran, um einen potentiell additiven Wirkungseffekt zu evaluieren.

Es zeigte sich in unserer Studie unter Wachstumsfaktorenapplikation über 20 Tage histologisch ein besseres Sehnenheilungsverhalten, doch es bleibt offen, inwieweit das

Gewebe Kraftbelastungen standhielte. Somit bedarf es diesbezüglich weiterführender biomechanischer Testungen. Zumal eine biomechanische Testung anfänglich in unserer Studie geplant war, wir uns jedoch aufgrund der starken Dislokationstendenz (33 %) in der zweiten Versuchsreihe auf die histologische Untersuchung beschränkten und sich die Zahl der Versuchstiere auf das Vorversuchsprotokoll reduzierte. Eine Anfrage die Zahl der Versuchstiere zu erhöhen, um in allen Versuchsgruppen 15 Tiere für die Auswertung zu erhalten, wurde von der zuständigen Regierung abgelehnt. Um die statistische Power zu erhalten, wurde die Auswertung auf die histologische Untersuchung beschränkt und auf die biomechanische Testung, für welche 6 Tiere pro Gruppe geplant waren, wurde verzichtet. Eine weitere Limitation stellte der Verzicht auf Implantation von Pumpen ohne Wirkstoff in einer Kontrollgruppe dar. Da jedoch von der Ethikkommission nur eine Kontrollgruppe für die Versuchsreihen gestattet wurde, beschränkten wir uns auf eine Kontrollgruppe ohne Pumpenimplantation, da die Tiere für eine folgende Studie ohne Fremdkörperimplantation ebenfalls als Kontrollgruppe dienen sollten.

Aufgrund der Tatsache, dass die Ratte ein Vierfüßler ist und keinen Vorderlauf während täglicher Aktivitäten bevorzugt, bestand in der Wahl zwischen rechter oder linker Schulter kein signifikanter Unterschied.<sup>143</sup>

Da die Ratte ihre Arme zum Bauen, zur Nahrungsaufnahme und Vorwärtsbewegung heranzieht, könnte man einwenden, dass die Rattenschulter postoperativ stärkerer oder längerer Belastung ausgesetzt ist, als die des Menschen.

Allerdings war uns die Ruhigstellung des operierten Vorderlaufs nicht möglich. Doch es hat sich gezeigt, dass auch die menschliche Schulter durch zahlreiche starke Belastungen, durch das eigene Körpergewicht oder durch alltägliche Pflichten, beansprucht wird.<sup>78</sup>

So urteilten Untersuchungen, dass die Rotatorenmanschettenrekonstruktion innerhalb der ersten sechs postoperativen Wochen ca. 1000 - 2000 repetitiven Belastungen ausgesetzt ist.<sup>75,160</sup>

Ein weiterer Einflussfaktor, den es zu bedenken gilt, ist das vergleichsweise junge, adulte Versuchstier mit optimalen Gewebeverhältnissen. Denn die Zielgruppe unserer Studie wäre im klinischen Alltag der ältere Patient ohne entsprechende Vorbedingungen, wie optimale Gewebequalität und gute Durchblutungsverhältnisse.

Doch um den Alterseffekt auf unsere Versuche zu minimieren und eine größere Anatomie des Schultergelenks vorzufinden, verwendeten wir erwachsene, ca. 14 Wochen alte, Sprague -

Dawley® - Ratten, welche als phylogenetisch kleinstes Tier für unser Modell sehr gut die Rotatorenmanschettenrekonstruktion ermöglichten.

Das vergleichsweise kleine Versuchstier mit guten anatomischen Voraussetzungen erlaubt weiterführend auch größere, unkomplizierte Testläufe von starker statistischer Aussagekraft. Denn die Umsetzung für den klinischen Alltag bleibt noch limitiert, da es sich um einen Tierversuch handelt.

In Hinblick auf eine spätere klinische Anwendbarkeit zogen wir Wachstumsfaktoren heran, welche im klinischen Alltag genutzt werden.

Dabei bleibt zu beachten, dass die Verwendung von humanen Wachstumsfaktoren, insbesondere G - CSF, zeitlich beschränkt bleiben muss, um allseits bekannte Nebenwirkungen zu minimieren.

Nach Fukui et al. könnte man davon ausgehen, dass hohe Dosen von Wachstumsfaktoren in der Augmentation nicht unbedingt eine bessere Heilungsantwort erzielen als eine bedarfsorientierte, geringere Dosis. Sie beobachteten bei hohen Dosen von b - FGF eine ungünstige Wirkung auf die Sehnenheilung. So zeigten diese Gruppen weniger Regenerationsverhalten als die Kontrollgruppe.<sup>47</sup>

Diese Beobachtungen könnten auch erklären, warum in unserer Studie die Kombination von b - FGF und G - CSF einen nachteiligeren Effekt als die Einzeldosis der beiden erzielte.

Im klinischen Alltag ist eine Wachstumsfaktorenaugmentation beim Menschen mittels interskapulärer Pumpenimplantation nicht praktikabel und es sind Alternativen zu finden, zumal die Dislokationstendenz der Osmosepumpen in unserer Studie ein Problem darstellte.

In zukünftigen Studien sollten die histologischen Veränderungen zu weiteren Zeitpunkten (2, 4 und 7 Wochen) evaluiert werden, um die Sehnenheilung detaillierter vergleichen und aufzeichnen zu können.

Die kontinuierliche Freisetzung der Wachstumsfaktoren in unserer Studie gewährte einen stetig ausreichenden Zufluss. Es konnte somit nicht zu Peak - Zeitpunkten hochdosiert angesetzt werden, welche ein besonderes Maß an Stimulation erforderlich gemacht hätten. Doch aufgrund der damit verbundenen Komplexität einer programmierten, unterschiedlich dosierten Freisetzung, vereinfachten wir den Zufluss via kontinuierliche Freisetzung über osmotische Pumpen.

Somit konnte die physiologische Situation der Wundheilung mit Intervallen verringerter Wachstumsfaktorfreisetzung nicht exakt simuliert werden und es bleibt unklar, inwiefern dies

die Sehnenheilung unserer Studie beeinflusste.

Ein Vorteil der Zuhilfenahme von Wachstumsfaktoren zur Verbesserung des postoperativen Outcomes ist, dass sie als azelluläres Material ein geringeres Potential für Fremdkörperreaktionen, wie Entzündungs - oder Abstoßreaktionen, besitzen.

Nach Wang et al. ist Grundvoraussetzung für das ideale Biologicagerüst, dass es für den Patienten biokompatibel ist, die Integration des neuen Gewebes in das umliegende Wirtsgewebe ermöglicht, dabei Zellanlagerung, -proliferation und -migration gewährleistet und somit strukturelle Voraussetzungen für Zellen und neues Gewebe schafft.<sup>159</sup>

Darüber hinaus muss der Balanceakt zwischen einer reproduzierbaren Implantationsmethode für den klinischen Alltag und deren Standhalten gegenüber mechanischen Kräften mit guten Langzeitergebnissen bewältigt werden.

## **6. Zusammenfassung**

### Fragestellung:

Es wurde untersucht, ob nach induzierter Supraspinatussehnenruptur im Rattenmodell durch Wachstumsfaktorenapplikation über 20 Tage im Vergleich zum natürlichen Heilungsverlauf eine verbesserte Sehnenheilung erzielt werden kann.

Zielsetzung der Arbeit war es, zum einen die humane chronische Rotatorenmanschettenläsion im Tiermodell zu simulieren; zum anderen die einzelnen Wachstumsfaktoren und ihre Auswirkung auf die Sehnenheilung vergleichend zu beurteilen und mit ihrer potentiellen Wirkungsweise den Grundbaustein für andere Applikationsformen zu legen. Von besonderer Bedeutung dabei war es, die postoperative Rotatorenmanschettenrekonstruktion der chronisch - degenerativen Läsion des älteren Patienten positiv zu beeinflussen.

### Hypothesen:

Die histologische Situation der chronischen Rotatorenmanschettenläsion des Menschen ist im Rattenmodell abbildbar.

Durch Augmentation des Sehnengewebes mit Wachstumsfaktoren über 20 Tage kann eine verbesserte Einheilung der Supraspinatussehne erreicht werden.

Eine Kombination von Wachstumsfaktoren bewirkt additive Effekte.

### Methode:

Die vorliegende Arbeit stellt eine tierexperimentelle Studie dar, die verschiedene Wachstumsfaktoren zur Verbesserung der Sehneneinheilung nach Rotatorenmanschettenrekonstruktion vergleicht. Die histologischen Veränderungen wurden gemäß dem MOVIN - Score in der H. E. - Färbung untersucht, welches eine vergleichende Beurteilung der Wachstumsfaktoren ermöglichte.

Wir wählten für die Studie einen zweiphasigen Versuchsaufbau, um in der ersten Phase die Situation einer chronischen Rotatorenmanschettenruptur am Rattenmodell zu evaluieren.

Nach Abschluss dieser Vorphase implantierten wir in der zweiten Phase die mit Wachstumsfaktoren beladenen Osmosepumpen zum evaluierten Zeitpunkt aus Phase I. Zur Beurteilung der unterschiedlichen Wachstumsfaktoren unterteilten wir die Versuchsreihen in vier Gruppen (Kontrolle, b - FGF, G - CSF, Kombination).

### Ergebnisse:

Die Ergebnisse der Phase I zeigten, dass am Rattenmodell eine chronische Supraspinatusruptur generiert werden kann. Dabei eignete sich das Intervall von 3 Wochen am besten, da im weiteren Zeitverlauf die Degeneration der Sehne samt Defektdeckung durch Narbengewebe zunahm. Im Gegensatz zum humanen Muskel kam es zu einer ausgeprägteren chronischen Entzündungsreaktion ohne bindegewebige Defektdeckung und wesentliche fettige Infiltration.

Die größten Unterschiede zum Menschen bestanden in der raschen Selbstheilungstendenz des Rattengewebes durch hypertrophes Narbengewebe und in der geringeren fettigen Infiltration. Jedoch waren Sehnendegeneration, Entzündungszeichen und Atrophie von Muskel und Sehne mit denen des Menschen bei chronischer Rotatorenmanschettenläsion durchaus vergleichbar.

In Phase II ergab sich ein signifikant verbessertes Remodelling der Sehne (Summenwert des MOVIN - Scores) bei kontinuierlicher Applikation der einzelnen Wachstumsfaktoren (b - FGF, G - CSF) im Vergleich zur Kontrollgruppe. Dabei zeigte sich insbesondere die positive Wirkung beider Wachstumsfaktoren in Beeinflussung der Faserstruktur und - anordnung.

Anhand des Summenwertes des MOVIN - Scores ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Wachstumsfaktoren und der Kontroll - / Mix - Gruppe.

Zwischen b - FGF und G - CSF, sowie zwischen der Kontrolle und dem Mix, ließ sich hingegen kein signifikanter Unterschied festmachen.

Unsere Studie zeigt, dass die kontinuierliche Applikation einzelner Wachstumsfaktoren (G - CSF, b - FGF) eine signifikante Verbesserung des Remodellings der Sehnenheilung in der H. E. - Färbung bei chronischen Rotatorenmanschettenläsionen erzielen kann. Ein positives Zusammenwirken verschiedener Wachstumsfaktoren mit additiver Wirkung ließ sich nicht nachweisen.

Die Kombination der Wachstumsfaktoren bot keinen signifikanten Unterschied zur

Kontrollgruppe. Der zu erwartende Effekt einer synergistischen Wirkung der Mix - Gruppe, in Hinblick auf die positiven Effekte von b - FGF und G - CSF im Einzelnen, stellte sich nicht ein.

Das Ausbleiben des verbesserten Remodellings bei der Kombination von b - FGF und G - CSF, welches sich in unserer zweiten Phase zeigte, kann nicht verbindlich erklärt werden. Eine mögliche Interaktion beider Wachstumsfaktoren böte eine Erklärung.

### Fazit:

Eine Simulation der chronischen Rotatorenmanschettenläsion im Rattenmodell, sowie deren positive Beeinflussung via Wachstumsfaktorenapplikation, ist anhand der Ergebnisse möglich.

Die postoperative Augmentation der Supraspinatusruptur mit Wachstumsfaktoren, in Form von osmotischer Freigabe, stellt eine Möglichkeit für ein verbessertes Outcome nach Rotatorenmanschettenrekonstruktion dar.

Die Hypothese, dass bei einer simulierten chronischen Rotatorenmanschettenruptur eine kontinuierliche Applikation einzelner Wachstumsfaktoren (b - FGF, G - CSF) eine verbesserte Sehneneinheilung bewirkt, konnte bestätigt werden.

So zeigt sich, dass b - FGF und G - CSF in der alleinigen Applikation eine verbesserte Sehnenheilung der chronischen Supraspinatusruptur im Rattenmodell bewirken. Eine positive Wirkung der genannten Wachstumsfaktoren in Kombination konnte jedoch nicht bestätigt werden. Es zeigte sich keine signifikante Verbesserung im Vergleich mit der Kontrollgruppe. Zwar fiel die erhoffte Zunahme der Vaskularisierung gering und ohne Signifikanz aus, jedoch bekräftigten signifikante Verbesserungen von Faserstruktur und - anordnung die Hypothese, dass b - FGF und G - CSF das postoperative Outcome positiv beeinflussen. Hervorzuheben bleibt, dass Gewebereaktionen, interstitielle Flüssigkeit, sowie im Besonderen die Dislokationstendenz der Pumpen, die Ergebnisse der Phase II beeinflussten.

In der Zukunft werden zusätzliche in - vivo - Untersuchungen erforderlich sein, um die Invasivität des Verfahrens und die Dislokationstendenz der Pumpen zu reduzieren.

Dabei sollte das Augenmerk auch auf eine biomechanische Austestung erster histologischer Erfolge, sowie eine Verwendung weiterer Applikationsarten und vaskularisierungsfördernder Wachstumsfaktoren (z. B. VEGF) gerichtet werden, um die Erkenntnisse über

Rotatorenmanschettenläsionen und deren positiver Beeinflussung durch Wachstumsfaktoren zu vertiefen.

## **7. Ausblick**

Die Ergebnisse unserer Arbeit zeigen, dass das Rattenmodell die Möglichkeit bietet, bestimmte Aspekte einer chronischen Rotatorenmanschettenläsion beim älteren Menschen zu simulieren. Darauf aufbauend, dass Wachstumsfaktoren einen positiven Einfluss auf das postoperative Sehnenremodelling nach Rotatorenmanschettenläsionen besitzen, stellt unser Rattenmodell eine Grundlage für weitere Forschungen dar.

Mittels weiterer immunhistologischer Untersuchungen sollten hierzu weitere Erkenntnisse angestrebt werden. Insbesondere Angiogenese und Kollagenstruktur, sowie Dosisanpassung und Kombination anderer Wachstumsfaktoren sollten dabei im Vordergrund stehen.

Des Weiteren sind die biomechanischen Eigenschaften der verbesserten Sehnen - und Muskelbefunde ein weiterer wichtiger Faktor, den es künftig zu untersuchen gilt.

Da eine einzelne Applikation von Wachstumsfaktoren bereits eine verbesserte Sehnenheilung erzielen kann, wäre eine Weiterentwicklung besserer und praktikabler Applikationsformen, wie z. B. Gele oder Wachstumsfaktorengerüste anzustreben, da langfristig eine Pumpenimplantation im klinischen Alltag keinen Bestand haben wird.

Soll ein alternatives Biologica - Gerüst etabliert werden, muss es Voraussetzungen wie geringe Fremdkörperreaktion, problemlose Handhabung im klinischen Alltag und Effizienz erfüllen.

Eine zweite Studie der Arbeitsgruppe nahm sich dessen bereits an und untersuchte die Heilungsantwort der Supraspinatussehne, indem Wachstumsfaktoren in Phospholipidgele inkorporiert wurden.<sup>22</sup>

Neben der optimalen chirurgischen Fixierung des Rotatorenmanschettendefektes, wird die postoperative Nachbehandlung stets eine tragende Rolle besitzen, um langfristig ein optimales postoperatives Ergebnis zu erzielen. Unter der Voraussetzung, dass diese sich nach den Wundheilungsphasen richtet, kann so das Gewebe adäquat geschützt und gleichzeitig funktionell belastet werden.

Dabei können durch eine angepasste Rehabilitation mit zeitgerechter Mobilisation, in

Anbetracht der chronisch - degenerativen Läsion des älteren Patienten, die notwendigen Reize für einen funktionellen Umbau des regenerierenden Supraspinatusgewebes gesetzt werden. Gleichzeitig muss jedoch auch die externe Krafteinwirkung minimiert bleiben, um ein Versagen der Rekonstruktion zu verhindern.

Inwieweit derartige Entwicklungen, besonders der Gebrauch von Biologica für die Verbesserung der Sehnenheilung, relevant sind, werden kommende Studien zeigen.

Denn die Verringerung der Rerupturrate, insbesondere bei Patienten mit vermindertem Heilungspotential, bleibt ein wichtiges Thema und Biologica stellen diesbezüglich eine attraktive Option dar.

Ob in der Zukunft Wachstumsfaktoren als komplexe therapeutische Targets eine wichtige Rolle in der Schulterchirurgie darstellen werden, bleibt abzuwarten. Ohne Zweifel sind sie bei wichtigen proliferativen und angiogenetischen Antworten auf Sehnenschädigungen beteiligt und ihre Augmentation oder Hemmung besitzt therapeutisches Potential.

Somit hoffen wir, einen Beitrag zur Unterstützung etablierter Rotatorenmanschetten - Rekonstruktionsverfahren und zu deren Outcome - Verbesserung leisten zu können.

## 8. Literaturverzeichnis

1. Abraham GA, Murray J, Billiar K, Sullivan SJ. Evaluation of the porcine intestinal collagen layer as a biomaterial. *J Biomed Mater Res* (2000); 51: 442-452
2. Anitua E, Andía I, Sanchez M, Azofra J, del Mar Zaldueño M, de la Fuente M, Nurden P, Nurden AT. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *Orthop Res* (2005); 23: 281-286
3. Anitua E, Sanchez M, Nurden AT, Zaldueño M, de la Fuente M, Orive G, Azofra J, Andia I. Autologous fibrin matrices: a potential source of biological mediators that modulate tendon cell activities. *J Biomed Mater Res A* (2006); 77: 285-293
4. Appell HJ, Stang-Voss C. In: „Funktionelle Anatomie. Grundlagen sportlicher Leistung und Bewegung.“ Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 2008, 4. Auflage; 46-57
5. Aspenberg P, Forslund C. Enhanced tendon healing with GDF 5 and 6. *Acta Orthop Scand* (1999); 70: 51-54
6. Audenaert E, Van Nuffel J, Schepens A, Verhelst M, Verdonk R. Reconstruction of massive rotator cuff lesions with a synthetic interposition graft: a prospective study of 41 patients. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* (2006); 14: 360-364
7. Aurora A, McCarron J, Ianotti JP, Derwin K. Commercially available extracellular matrix materials for rotator cuff repairs: state of the art and future trends. *J Shoulder Elbow Surg* (2007); 16: 171-178
8. Badhe SP, Lawrence TM, Smith FD, Lunn PG. An assessment of porcine dermal xenograft as an augmentation graft in the treatment of extensive rotator cuff tears. *J Shoulder Elbow Surg* (2008); 17: 35-39
9. Barber FA, Herbert MA, Boothby MH. Ultimate tensile failure loads of a human dermal allograft rotator cuff augmentation. *Arthroscopy* (2008); 24: 20-24.
10. Barton ER, Gimbel J, Williams GR, Soslowsky LJ. Rat supraspinatus muscle atrophy after tendon detachment. *J Orthop Res* (2005); 23: 259-265
11. Bassett RW, Cofield RH. Acute tears of the rotator cuff. The timing of surgical repair. *Clin Orthop Relat Res* (1983); 175: 18-24
12. Bauer GJ, Kniesel B. Die arthroskopische Rotatorenmanschettenrekonstruktion. *Unfallchirurg* (2006); 109: 619-627
13. Belcher HJ, Zic R. Adverse effect of porcine collagen interposition after trapeziectomy: a comparative study. *J Hand Surg Br* (2001); 26: 159-164

14. Benninghoff A, Drenckhahn D. „Anatomie Band I.“ Urban und Fischer Verlag, München, 2008, 17. Auflage; 279-302
15. Benson RT, McDonnell SM, Rees JL, Athanasou NA, Carr AJ. The morphological and immunocytochemical features of impingement syndrome and partial-thickness rotator-cuff tear in relation to outcome after subacromial decompression. *J Bone Surg Br* (2009); 91: 119-123
16. Bhattacharya V, Shi Q, Ishida A, Sauvage LR; Hammond WP, Wu MH. Administration of granulocyte colony-stimulating factor enhances endothelialization and microvessel formation in small-caliber synthetic vascular grafts. *J Vasc Surg* (2000); 32: 116-123
17. Bigliani LU, Ticker JB, Flatow EL, Soslowsky LJ, Mow VC. The relationship of acromial architecture to rotator cuff disease. *Clin Sports Med* (1991); 10: 823-838
18. Björkenheim JM. Structure and function of the rabbit's supraspinatus muscle after resection of its tendon. *Acta Orthop Scand* (1989); 60: 461-463
19. Boszotta H, Prünner K. Arthroscopically assisted rotator cuff repair. *Arthroscopy* (2004); 20: 620-626
20. Buchmann S, Imhoff AB. Arthroskopische Rekonstruktion superiorer und postero-superiorer Rotatorenmanschettenrupturen. *Arthroskopie* (2007); 20:40-46
21. Buchmann S, Sandmann G, Walz L, Hoppe H, Beitzel K, Wexel G, Tian W, Winter G, Imhoff AB. Refixation of the supraspinatus tendon in a rat model – Influence of continuous growth factor application on tendon structure. *J Orthop Res* (2013); 31(2):300-305
22. Buchmann S, Walz L, Reichel T, Wexel G, Battmann A, Hinterwimmer S, Winter G, Imhoff AB. Supraspinatusrefixation am Rattenmodell – Auswirkung einer kontinuierlichen G-CSF Applikation über Phospholipidgele auf Sehnenstruktur und biomechanische Eigenschaften. AGA Research Day, Jahrestagung der AGA, Regensburg, 2011
23. Buchmann S, Walz L, Sandmann G, Hoppe H, Beitzel K, Wexel G, Battmann A, Vogt S, Hinterwimmer S, Imhoff AB. Rotator cuff changes in a full thickness tear rat model: verification of the optimal time interval until reconstruction for comparison to the healing process of chronic lesions in humans. *Arch Orthop Trauma Surg* (2011); 131: 429-435
24. Budoff JE, Nirschl RP, Guidi EJ. Débridement of partial-thickness tears of the rotator cuff without acromioplasty. Long-term follow-up and review of the literature. *J Bone Joint Surg Am* (1998); 80: 733-748
25. Burns JP, Snyder SJ. Biologic Patches for Management of Irreparable Rotator Cuff Tears. *Techniques in Shoulder & Elbow Surgery* (2009); 10:11-21
26. Bussolino F, Ziche M, Wang JM, Alessi D, Morbidelli L, Cremona O, Bosia A,

- Marchisio PC, Mantovani A. In vitro and in vivo activation of endothelial cells by colony-stimulating cells. *J Clin Invest* (1991); 87: 986-995
27. Calvert PT, Packer NP, Stoker DJ, Bayley JI, Kessel L. Arthrography of the shoulder after operative repair of the torn rotator cuff. *J Bone Joint Surg Br* (1986); 68:147-150
28. Carpenter JE, Thomopoulos S, Flanagan CL, DeBano CM, Soslowky LJ. Rotator cuff defect healing: a biomechanical and histologic analysis in an animal model. *J Shoulder Elbow Surg* (1998); 7: 599-605
29. Castricini R, Longo UG, De Benedetto M, Panfoli N, Pirani P, Zini R, Maffulli N, Denaro V. Platelet-rich plasma augmentation for arthroscopic rotator cuff repair: a randomized controlled trial. *Am J Sports Med* (2011); 39: 258-265
30. Chan BP, Chan KM, Maffulli N, Webb S, Lee KK. Effect of basic fibroblast growth factor. An in vitro study of tendon healing. *Clin Orthop Relat Res* (1997); 342: 239-247
31. Chang J, Most D, Thunder R, Mehrara B, Longaker MT, Lineaweaver WC. Molecular studies in flexor tendon wound healing: the role of basic fibroblast growth factor gene expression. *J Hand Surg* (1998); 23: 1052-1058
32. Chard MD, Cawston TE, Riley GP, Gresham GA, Hazleman BL. Rotator cuff degeneration and lateral epicondylitis: a comparative histological study. *Ann Rheum Diss* (1994); 53: 30-34
33. Cheung D, Brown L, Sampath R. Localized inferior orbital fibrosis associated with porcine dermal collagen xenograft orbital floor implant. *Ophthal Plast Reconstr Surg* (2004); 20: 257-259
34. Cofield RH. Rotator cuff disease of the shoulder. *J Bone Joint Surg Am* (1985). 67: 974-979
35. Coleman SH, Fealy S, Ehteshami JR, MacGillivray JD, Altchek DW, Warren RF, Turner AS. Chronic rotator cuff injury and repair model in sheep. *J Bone Joint Surg Am* (2003). 85-A: 2391-2402.
36. Davidson PA, Rivenburgh DW. Rotator cuff repair tension as a determinant of functional outcome. *J Shoulder Elbow Surg* (2000); 9: 502-506
37. Demetri GD, Griffin JD. Granulocyte colony-stimulating factor and its receptor. *Blood* (1991); 78: 2791-2808
38. Derwin KA, Baker AR, Iannotti JP, McCarron JA. Preclinical models for translating regenerative medicine therapies for rotator cuff repair. *Tissue Eng Part B Rev* (2010); 16: 21-30.
39. Dines JS, Grande DA, ElAttrache N, Dines DM. Biologics in Shoulder Surgery: Suture Augmentation and Coating to Enhance Tendon Repair. *Techniques in Orthopaedics*

(2007); 22: 20-25

40. Dopirak R, Bond JL, Snyder SJ. Arthroscopic total rotator cuff replacement with an acellular human dermal allograft matrix. *Internat J Shoulder Surg* (2007); 1: 7-15
41. Duffy FJ, Seiler JG, Gelbermann RH, Hergrueter CA. Growth factors and canine flexor tendon healing: initial studies in uninjured and repair models. *J Hand Surg Am* (1995); 20: 645-649
42. El-Azab H, Buchmann S, Beitzel K, Waldt S, Imhoff AB. Clinical and structural evaluation of arthroscopic double-row suture-bridge rotator cuff repair: early results of a novel technique. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2010; 18: 1730-1737
43. Ellman H. Arthroscopic subacromial decompression: a preliminary report. *Orthop Trans* (1985); 9: 49
44. Fabis J, Kordek P, Bogucki, A, Synder M, Kolczynska H. Function of the rabbit supraspinatus muscle after detachment of its tendon from the greater tubercle. Observations up to 6 months. *Acta Ortop Scand* (1998); 69: 570-574
45. Farshad M, Würigler-Hauri C, Kohler T, Gerber C, Rothenfluh DA. Effect of age on fatty infiltration of supraspinatus muscle after experimental tendon release in rats. *BMC research Notes* (2011); 4:530
46. Fuchs S, Chylarecki C, Langenbrinck A. Incidence and symptoms of clinically manifest rotator cuff lesions. *Int J Sports Med.* (1999); 20: 201-205
47. Fukui N, Katsuragawa Y, Sakai H, Oda H, Nakamura K. Effect of local application of basic fibroblast growth factor on ligament healing in rabbits. *Rev Rhum Engl Ed* (1998); 65: 406-414
48. Gabra N, Khayat A, Calabresi P, Khayat A. Detection of elevated basic fibroblast growth factor during early hours of in vitro angiogenesis using a fast ELISA immunoassay. *Biomech Biophys Res Commun* (1994); 205: 1423-1430
49. Galatz LM, Griggs S, Cameron BD, Iannotti JP. Prospective longitudinal analysis of postoperative shoulder function: a ten-year follow-up study of full-thickness rotator cuff tears. *J Bone Joint Surg Am* (2001); 83-A: 1052-1056
50. Galatz LM, Ball CM, Teefey SA, Middleton WD, Yamaguchi K. The outcome and repair integrity of completely arthroscopically repaired large and massive rotator cuff tears. *J Bone Joint Surg Am* (2004); 86-A: 219-224
51. Galatz LM, Rottermich SY, Zaegel M, Silva MJ, Havioglu N, Thomopoulos S. Delayed repair of tendon to bone injuries leads to decreased biomechanical properties and bone loss. *J Orthop Res* (2005); 23: 1441-1447.
52. Galatz LM, Sandell LJ, Rothermich SY, Das R, Mastny A, Havlioglu N, Silva MJ, Thomopoulos S. Characteristics of the rat supraspinatus tendon during tendon-to-bone

- healing after acute injury. *J Orthop Res* (2006); 24: 541-550
53. Gamradt SC, Rodeo SA, Warren RF. Platelet Rich Plasma in Rotator Cuff Repair. *Techniques in Orthopaedics* (2007); 22: 26-33
54. Gartsman GM, Khan M, Hammerman SM. Arthroscopic repair of full-thickness tears of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Am* (1998); 80: 832-840
55. Gartsman GM, Brinker MR, Khan M. Early effectiveness of arthroscopic repair for full-thickness tears of the rotator cuff: an outcome analysis. *J Bone Joint Surg Am* (1998); 80: 33-40
56. Gazielly DF, Gleyze P, Montagnon C. Functional and anatomical results after rotator cuff repair. *Clin Orthop Relat Res* (1994); 304: 43-53
57. Gelberman RH, Woo SL, Lothringer K, Akeson WH, Amiel D. Effects of early intermittent passive mobilization on healing canine flexor tendons. *J Hand Surg Am* (1982); 7: 170-175
58. Gerber C, Fuchs B, Hodler J. The results of repair of massive tears of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Am* (2000); 82: 505-515
59. Gerber C, Meyer DC, Schneeberger AG, Hoppeler H, von Rechenberg B. Effect of tendon release and delayed repair on the structure of the muscles of the rotator cuff: an experimental study in sheep. *J Bone Joint Surg Am* (2004); 86-A: 1973-1982
60. Gimbel JA, Van Kleunen JP, Mehta S, Perry SM, Williams GR, Soslowsky LJ. Supraspinatus tendon organizational and mechanical properties in a chronic rotator cuff tear animal model. *J Biomech* (2004); 37: 739-749
61. Gohlke F, Hedtmann A. „Schulter: Orthopädie und Orthopädische Chirurgie.“ Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2002; 1. Auflage: 158-160; 246-311
62. Gomoll AH, Katz JN, Warner JJ, Millett PJ. Rotator cuff disorders: recognition and management among patients with shoulder pain. *Arthritis Rheum* (2004); 50: 3751-3761
63. Gospodarowicz D, Ferrara N, Schweigerer L, Neufeld G. Structural characterization and biological functions of basic fibroblast growth factor. *Endocrinal Rev* (1987); 8: 95-114
64. Goutallier D, Postel JM, Lavau L, Bernageau J. Impact of fatty degeneration of the supraspinatus and infraspinatus muscles on the prognosis of surgical repair of the rotator cuff. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot* (1999). 85: 668-676
65. Guttman D, Graham RD, MacLennan MJ, Lubowitz JH. Arthroscopic rotator cuff repair: the learning curve. *Arthroscopy* (2005); 21: 394-400
66. Habermeyer P, Lehmann L, Lichtenberg S. Rotatorenmanschetten-Ruptur: Diagnostik

und Therapie. Der Orthopäde (2000); 29: 196-208

67. Habermeyer P, Agneskirchner JD. In: „Schulterchirurgie“. Urban und Fischer Verlag, München. 2002. 3. Auflage
68. Harryman DT 2nd, Mack LA, Wang KY, Jackins SE, Richardson ML, Matsen, FA 3rd. Repairs of the rotator cuff. Correlation of functional results with the integrity of the cuff. J Bone Joint Surg Am (1991); 73: 982-989
69. Hashimoto T, Nobuhara K, Hamada T. Pathologic evidence of degeneration as a primary cause of rotator cuff tear. Clin Orthop Relat Res (2003); 415: 111-120
70. Hata Y, Saitoh S, Murakami N, Kobayashi H, Kaito T, Kato H. Volume changes of supraspinatus and infraspinatus muscles after supraspinatus tendon repair: a magnetic resonance imaging study. J Shoulder Elbow Surg (2005); 14: 631-635
71. Hsu C, Chang J. Clinical implications of growth factors in flexor tendon wound healing. J Hand Surg Am (2004); 29: 551-563
72. Iannotti JP, Codsí MJ, Kwon YW, Derwin K, Ciccone J, Brems JJ. Porcine small intestine submucosa augmentation of surgical repair of chronic two-tendon rotator cuff tears. A randomized, controlled trial. J Bone Joint Surg Am (2006); 88: 1238-1244
73. Ide J, Kikukawa K, Hirose J, Iyama K, Sakamoto H, Mizuta H. The effects of fibroblast growth factor-2 on rotator cuff reconstruction with acellular dermal matrix grafts. Arthroscopy (2009); 25: 608-616
74. Ide J, Kikukawa K, Hirose J, Iyama K, Sakamoto H, Fujimoto T, Mizuta H. The effect of a local application of fibroblast growth factor-2 on tendon-to-bone remodeling in rats with acute injury and repair of the supraspinatus tendon. J Shoulder Elbow Surg (2009); 18: 391-398
75. Ilahi OA, Younas SA, Alexander J, Noble PC. Cyclic testing of arthroscopic knot security. Arthroscopy (2004); 20: 62-68
76. Imhoff AB, Ledermann TH. Das Impingementsyndrom der Schulter, Definition, Pathogenese-pathologische Befunde. In: „Das Impingementsyndrom der Schulter.“ Eulert J, Hedtmann A (Hrsg), Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, 1996, S.1-13
77. Imhoff AB, König U. Schulterinstabilität - Rotatorenmanschette: arthroskopische und offene Operationstechniken bei Schulterverletzungen des Sportlers. Steinkopff-Verlag, 1999, Darmstadt: S.19
78. Imman VT, Saunders JB, Abbott LC. Observations of the function of the shoulder joint. 1944. Clin Orthop Relat Res (1996); 330: 3-12
79. Itoi E, Berglund LJ, Grabowski JJ, Schultz FM, Growney ES, Morrey BF, An KN. Tensile properties of the supraspinatus tendon. J Orthop Res (1995); 13: 578-584

80. Jann HW, Stein LE, Slater DA. In vitro effects of epidermal growth factor or insulin-like growth factor on tenoblast migration on absorbable suture material. *Vet Surg* (1999); 28: 268-278
81. Johnson W, Inamasu J, Yantzer B, Papangelou C, Guiot B. Comparative in vitro biomechanical evaluation of two soft tissue defect products. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* (2007) [Epub ahead of print]
82. Jössel G. Anatomische Beiträge zur Kenntnis der Humerusluxationen mit Fractur der Tuberkel. *Dtsch Z Chir* (1874); 4: 124-129
83. Kobayashi D, Kurosaka M, Yoshiya S, Mizuno K. Effect of basic fibroblast growth factor on the healing of defects in the canine anterior cruciate ligament. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* (1997); 5: 189-194
84. Kobayashi M, Itoi E, Minagawa H, Miyakoshi N, Takahashi S, Tuoheti Y, Okada K, Shimada Y. Expression of growth factors in the early phase of supraspinatus tendon healing in rabbits. *J Shoulder Elbow Surg* (2006); 15: 371-377
85. Kovacevic D, Rodeo SA. Biological augmentation of rotator cuff tendon repair. *Clin Orthop Relat Res* (2008); 466:622-633
86. Levy HJ, Uribe JW, Delaney LG. Arthroscopic assisted rotator cuff repair: preliminary results. *Arthroscopy* (1990). 6: 55-60
87. Lichtenberg S, Liem D, Magosch P, Habermeyer P. Influence of tendon healing after arthroscopic rotator cuff repair on clinical outcome using single-row Mason-Allen suture technique: a prospective, MRI controlled study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* (2006); 14: 1200-1206
88. Liem D, Lichtenberg S, Magosch P, Habermeyer P. Magnetic resonance imaging of arthroscopic supraspinatus tendon repair. *J Bone Joint Surg Am* (2007); 89: 1770-1776
89. Liu SH, Baker CL. Arthroscopically assisted rotator cuff repair: correlation of functional results with integrity of the cuff. *Arthroscopy* (1994); 10: 54-60
90. Longo UG, Franceschi F, Ruzzini L, Rabitti C, Morini S, Maffulli N, Denaro V. Histopathology of the supraspinatus tendon in rotator cuff tears. *Am J Sports Med* (2008); 36: 533-538
91. Longo UG, Berton A, Khan WS, Maffulli N, Denaro V. Histopathology of rotator cuff tears. *Sports Med Arthrosc* (2011); 19: 227-236
92. Longo UG, Lamberti A, Maffulli N, Denaro V. Tissue engineered biological augmentation for tendon healing: a systematic review. *Br Med Bull* (2011); 98: 31-59
93. Luo ZP, Hsu HC, Grabowski JJ, Morrey BF, An KN. Mechanical environment associated with rotator cuff tears. *J Shoulder Elbow Surg* (1998); 7: 616-620

94. MacGillivray JD, Fealy S, Terry MA, Koh JL, Nixon AJ, Wallen RF. Biomechanical evaluation of rotator cuff defect model augmented with a bioresorbable scaffold in goats. *J Shoulder Elbow Surg* (2006); 15: 639-644
95. Macleod TM, Williams G, Sanders R, Green CJ. Histological evaluation of Permacol as a subcutaneous implant over a 20-week period in the rat model. *Br J Plast Surg* (2005); 58: 518-532
96. Maffulli N, Longo UG, Franceschi F, Rabitti C, Denaro V. Movin and Bonar Scores assess the same characteristics of tendon histology. *Clin Orthop Relat Res* (2008); 466: 1605-1611
97. Majewski M, Ochsner PE, Liu F, Flückiger R, Evans CH. Accelerated healing of the rat Achilles tendon in response to autologous conditioned serum. *Am J Sports Med* (2009); 37: 2117-2125
98. Malcarney HL, Bonar F, Murrell GA. Early inflammatory reaction after rotator cuff repair with a porcine small intestine submucosal implant: a report of 4 cases. *Am J Sports Med* (2005); 33: 907-911
99. Mazzocca A, McCarthy MB, Jhaveri A, et al. The process of coating suture material with biologically active materials as well as its in vitro biological and mechanical evaluation compared to standard suture materials. Presented at American Shoulder Elbow Surgeons Closed Meeting. 2006
100. Mazzocca AD, McCarthy MB, Chowaniec D, Cote MP, Judson CH, Apostolakos J, Solovyova O, Beitzel K, Arciero RA. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells obtained during arthroscopic rotator cuff repair surgery show potential for tendon cell differentiation after treatment with insulin. *Arthroscopy* (2011); 27: 1459-1471
101. Mazzocca AD, McCarthy MB, Chowaniec DM, Cote MP, Romeo AA, Bradley JP, Arciero RA, Beitzel K. Platelet rich plasma differs according to preparation method and human variability. *J Bone Joint Surg Am* (2012); 94: 308-316
102. Millett PJ, Mazzocca A, Guanche CA. Mattress double anchor footprint repair: a novel, arthroscopic rotator cuff repair technique. *Arthroscopy* (2004); 20: 875 -879
103. Molloy T, Wang Y, Murrell G. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sports Med* (2003); 33: 381-394
104. Montgomery SR, Petrigliano FA, Gamradt Sc. Biologic augmentation of rotator cuff repair. *Curr Rev Musculoskelet Med* (2011); 4: 221-230
105. Movin T, Gad A, Reinholt FP, Rolf C. Tendon pathology in long-standing achillodynia. Biopsy findings in 40 patients. *Acta Orthop Scand* (1997); 68: 170-175
106. Murray MM, Spindler KP, Devin C, Snyder BS, Muller J, Takahashi M, Ballard P, Nanney LB, Zurakowski D. Use of a collagen-platelet rich plasma scaffold to stimulate healing of a central defect in the canine ACL. *J Orthop Res* (2006); 24: 820-

107. Murray MM, Spindler KP, Abreu E, Muller JA, Nedder A, Kelly M, Frino J, Zurakowski D, Valenza M, Snyder BD, Connolly SA. Collagen-platelet rich plasma hydrogel enhances primary repair of the porcine anterior cruciate ligament. *J Orthop Res* (2007); 25: 81-91
108. Müller, W. Über habituelle Schulterluxationen. Vortrag XXVII. Chirurgenkongress zu Berlin. 1898
109. Nakamura T, Hanada K, Tamura M, Shibunushi T, Nigi H, Tagawa M, Fukumoto S, Matsumoto T. Stimulation of endosteal bone formation by systemic injections of recombinant basic fibroblast growth factor in rats. *Endocrinology* (1995); 136: 1276-1284
110. Natori T, Sata M, Washida M, Hirata Y, Nagai R, Makuuchi M. G-CSF stimulates angiogenesis and promotes tumor growth: potential contribution of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Biochem Biophys Res Comm* (2002); 297: 1058-1061
111. Neer CS 2nd. Anterior acromioplasty for the chronic impingement syndrome in the shoulder. 1972. *J Bone Joint Surg Am* (2005); 87: 1399
112. Oh JH, Kim SH, Ji HM, Jo KH, Bin SW, Gong HS: Prognostic factors affecting anatomic outcome of rotator cuff repair and correlation with functional outcome. *Arthroscopy* (2009); 25: 30-39
113. Oliva F, Maffulli N. Role of growth factors in rotator cuff healing. *Sports Med Arthrosc* (2011); 19: 218-226
114. Otsuka Y, Mizuta H, Takagi K, Iyama K, Yoshitake Y, Nishikawa K, Suzuki F, Hiraki Y. Requirement of fibroblast growth factor signaling for regeneration of epiphyseal morphology in rabbit full-thickness defects of articular cartilage. *Dev Growth Differ* (1997); 39: 143-156
115. Ozaki J, Fujimoto S, Masuhara K, Tamai S, Yoshimoto S. Reconstruction of chronic massive rotator cuff tears with synthetic materials. *Clin Orthop Relat Res* (1986); 202: 173-183
116. Peltz CD, VanKleunen JP, Soslowsky LJ. Mechanical loading in rotator cuff healing. *Techniques in Orthopaedics* (2007); 22: 34-42
117. Perry SM, McIlhenny SE, Hoffman MC, Soslowsky LJ. Inflammatory and angiogenic mRNA levels are altered in a supraspinatus tendon overuse animal model. *J Shoulder Elbow Surg* (2005); 14: 79-83
118. Provencher MT, Mazzocca A, Romeo AA. Biologics in Rotator Cuff Surgery: Management of Rotator Cuff Tears With an Extracellular Matrix Patch. *Techniques in Orthopaedics* (2007); 22: 43-54

119. Randelli P, Arrigoni P, Ragone V, Aliprandi A, Cabitza P. Platelet rich plasma in arthroscopic rotator cuff repair: a prospective RCT study, 2-year follow-up. *J Shoulder Elbow Surg* (2011); 20: 518-528.
120. Rathbun JB, Macnab I. The microvascular pattern of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Br* (1970). 52: 540-553
121. Rauber A, Kopsch F. In: „Anatomie des Menschen: Lehrbuch und Atlas. Band I: Bewegungsapparat.“, Leonhardt H, Tillmann B, Töndury G, Zilles K (Hrsg.), 3. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2003
122. Reilly P, Bull AM, Amis AA, Wallace AL, Richards A, Hill AM, Emery RJ. Passive tension and gap formation of rotator cuff repairs. *J Shoulder Elbow Surg* (2004); 13: 664-667
123. De Revel T, Appelbaum FR, Storb R, Schuening F, Nash R, Deeg J, McNiece I, Andrews R, Graham T. Effect of granulocyte-colony stimulating factor and stem cell factor, alone and in combination, on the mobilization of peripheral blood cells that engraft lethally irradiated dogs. *Blood* (1994); 83: 3795-3799
124. Rickert M, Jung M, Adiyaman M, Richter W, Simank HG. A growth and differentiation factor-5 (GDF-5)-coated suture stimulates tendon healing in an Achilles tendon model in rats. *Growth Factors* (2001); 19: 115-126
125. Riley GP, Harrall RL, Constant CR, Chard MD, Cawston TE, Hazleman BL. Tendon degeneration and chronic shoulder pain: changes in the collagen composition of the human rotator cuff tendons in rotator cuff tendinitis. *Ann Rheum Dis* (1994); 53: 359-366
126. Riley GP. Chronic tendon pathology: molecular basis and therapeutic implications. *Expert Rev Mol Med* (2005); 7: 1-25
127. Riley GP. Gene expression and matrix turnover in overused and damaged tendons. *Scand J Med Sci Sports* (2005); 15: 241-251
128. Rios CG, McCarthy MB, Arciero C, Spang JT, Arciero RA, Mazzocca A. Biologics in Shoulder Surgery: The Role of Adult Mesenchymal Stem Cells in Tendon Repair. *Techniques in Orthopaedics* (2007); 22: 2-9
129. Rodeo SA, Potter HG, Kawamura S, Turner AS, Kim HJ, Atkinson BL. Biologic augmentation of rotator cuff tendon-healing with use of a mixture of osteoinductive growth factors. *J Bone Joint Surg Am* (2007); 89: 2485-2497
130. Rokito AS, Cuomo F, Gallagher MA, Zuckerman JD. Long-term functional outcome of repair of large and massive chronic tears of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Am* (1999); 81: 991-997
131. Romeo AA, Hang DW, Bach BR Jr, Shott S. Repair of full thickness rotator cuff tears. Gender, age, and other factors affecting outcome. *Clin Orthop Relat Res* (1999); 367:

132. Sano H, Ishii H, Trudel G, Uthoff HK. Histologic evidence of degeneration at the insertion of 3 rotator cuff tendons: a comparative study with human cadaveric shoulders. *J Shoulder Elbow Surg* (1999); 8: 574-579
133. Sasaki K, Kuroda R, Ishida K, Kubo S, Matsumoto T, Mifune Y, Kinoshita K, Tei K, Akisue T, Tabata Y, Kurosaka M. Enhancement of Tendon-Bone Osteointegration of Anterior Cruciate Ligament Graft Using Granulocyte Colony-Stimulating Factor. *Am J Sports Med* (2008); 36: 1519-1527
134. Scheibel M, Habermeyer P. Klinische Diagnostik von Rotatorenmanschettenläsionen. *Arthroskopie* (2007); 20: 6-12
135. Schlegel TF, Hawkins RJ, Lewis CW, Motta T, Turner AS. The effects of augmentation with Swine small intestine submucosa on tendon healing under tension: histologic and mechanical evaluations in sheep. *Am J Sports Med* (2006); 34: 275-280
136. Schnabel LV, Mohammed HO, Miller BJ, McDermott WG, Jacobson MS, Santangelo KS, Fortier LA. Platelet rich plasma (PRP) enhances anabolic gene expression patterns in flexor digitorum superficialis tendons. *J Orthop Res* (2007); 25: 230-240
137. Sclamberg SG, Tibone JE, Itamura JM, Kasraeian S. Six-month magnetic resonance imaging follow-up of large and massive rotator cuff repairs reinforced with porcine small intestinal submucosa. *J Shoulder Elbow Surg* (2004); 13: 538-541
138. Seeherman HJ, Archambault JM, Rodeo SA, Turner AS, Zekas L, D'Augusta D, Li XJ, Smith E, Wozney JM. et al. rhBMP-12 accelerates healing of rotator cuff repairs in a sheep model. *J Bone Joint Surg Am* (2008); 90: 2206-2219
139. Seldes RM, Abramchayev I. Arthroscopic insertion of a biologic rotator cuff tissue augmentation after rotator cuff repair. *Arthroscopy* (2006); 22: 113-116
140. Silver FH, Freeman JW, Seehra GP. Collagen self-assembly and the development of tendon mechanical properties. *J Biomech* (2003); 36: 1529-1553
141. Smith J. The classic: Pathological appearances of seven cases of injury of the shoulder-joint: with remarks. 1834. *Clin Orthop Relat Res* (2010); 468: 1471-1475
142. Soler JA, Gidwani S, Curtis MJ. Early complications from the use of porcine dermal collagen implants (Percamol) as bridging constructs in the repair of massive rotator cuff tears. A report of 4 cases. *Acta Orthop Belg* (2007); 73: 432-436
143. Soslowsky LJ, Carpenter JE, DeBano CM, Banerji I, Moalli MR. Development and use of an animal model for investigations on rotator cuff disease. *J Shoulder Elbow Surg* (1996); 5: 383-392
144. Spang JT, Buchmann S, Brucker PU, Kouloumentas P, Obst T, Schröder M, Burgkart R, Imhoff AB. A biomechanical comparison of 2 transosseous-equivalent double-row

- rotator cuff repair techniques using bioabsorbable anchors: cyclic loading and failure behavior. *Arthroscopy* (2009); 25: 872-879
145. Stollsteimer GT, Savoie FH 3rd. Arthroscopic rotator cuff repair: current indications, limitations, techniques, and results. *Instr Course Lect* (1998); 47: 59-65
146. Sugihara T, Nakagawa T, Tsuchiya M, Ishizuki M. Prediction of primary reparability of massive tears of the rotator cuff on preoperative magnetic resonance imaging. *J Shoulder Elbow Surg* (2003); 12: 222-225
147. Tang JB, Xu Y, Ding F, Wang XT. Tendon healing in vitro: promotion of collagen gene expression by bFGF with NF-kappaB gene activation. *J Hand Surg Am* (2003); 28: 215-220
148. Tauro JC. Arthroscopic rotator cuff repair: analysis of technique and results at 2- and 3-year follow-up. *Arthroscopy* (1998); 14: 45-51
149. Theeuwes F, Yum SI. Principles of the design and operation of generic osmotic pumps for the delivery of semisolid or liquid drug formulations. *Ann Biomed Eng.* (1976); 4: 343-353
150. Thomazeau H, Rolland Y, Lucas C, Duval JM, Langlais F. Atrophy of the supraspinatus belly. Assessment by MRI in 55 patients with rotator cuff pathology. *Acta Orthop Scand* (1996); 67: 264-268
151. Thomopoulos S, Hattersley G, Rosen V, Mertens M, Galatz L, Williams GR, Soslosky LJ. The localized expression of extracellular matrix components in healing tendon insertion sites: an in situ hybridization study. *J Orthop Res* (2002); 20: 454-463
152. Thomopoulos S, Williams G, Soslosky LJ. Tendon to bone healing: differences in biomechanical, structural, and compositional properties due to a range of activity levels. *J Biomech Eng* (2003); 125: 106-113
153. Tischer T, Anetzberger H, Müller-Gerbl M, Imhoff AB. Arthroskopisch relevante Anatomie der Schulterinstabilität. *Arthroskopie* (2004); 17: 133-138
154. Uthoff HK, Loehr J, Sarkar K. The pathogenesis of rotator cuff tears. In: Takagishi H, ed. *The Shoulder*. Tokyo, Tokyo Prof Postgrad Serv, 1987, S. 211-212
155. Valentin JE, Badylak JS, McCabe GP, Badylak SF. Extracellular matrix bioscaffolds for orthopaedic applications. A comparative histologic study. *J Bone Joint Surg Am* (2006); 88: 2673-2686
156. Walch G. Synthèse sur l'épidémiologie et l'étiologie des ruptures de la coiffe des rotateurs. *Journées Lyonnaises de l'épaule*. Lyon, 1.-4. April 1993; *Kongressband*: 256-266
157. Walch G, Levigne C. Introduction to partial thickness tears of the supraspinatus tendon. *The Cuff*. 1997 (1st edn. Elsevier Masson); 231-233

158. Wang XT, Liu PY, Xin KQ, Tang JB. Tendon healing in vitro: bFGF gene transfer to tenocytes by adeno-associated viral vectors promotes expression of collagen genes. *J Hand Surg Am* (2005); 30: 1255-1261
159. Wang Y, Kim HJ, Vunjak-Novakovic G, Kaplan DL. Stem cell-based tissue engineering with silk biomaterials. *Biomaterials* (2006); 27: 6064-6082
160. Wetzler MJ, Bartolozzi AR, Gillespie MJ, Roth CA, Ciccotti MG, Snyder-Mackler L, Santare MH. Fatigue properties of suture anchors in anterior shoulder reconstructions: Mitek GII. *Arthroscopy* (1996); 12: 687-693
161. Wilson CL, Duff GL. Pathologic study of degeneration and rupture of the supraspinatus tendon. *Arch Surg* (1943); 47: 121-135
162. Wirth CF, Bischoff HP. In: „Praxis der Orthopädie.“ Georg Thieme Verlag, 2000; 3. Auflage: 413f
163. Woo SL, Gomez MA, Sites TJ, Newton PO, Orlando CA, Akeson WH. The biomechanical and morphological changes in the medial collateral ligament of the rabbit after immobilization and remobilization. *J Bone Joint Surg Am* (1987); 69: 1200-1211
164. Würzler-Hauri CC, Dourte LM, Baradet TC, Williams GR, Soslowsky LJ. Temporal expression of 8 growth factors in tendon-to-bone healing in a rat supraspinatus model. *J Shoulder Elbow Surg* (2007); 16: 198-203
165. Yamaguchi K, Tetro AM, Blam O, Evanoff BA, Teefey SA, Middleton WD. Natural history of asymptomatic rotator cuff tears: a longitudinal analysis of asymptomatic tears detected sonographically. *J Shoulder Elbow Surg* (2001); 10: 199-203
166. Yamaguchi K, Ditsios K, Middleton WD, Hildebolt CF, Galatz LM, Teefey SA. The demographic and morphological features of rotator cuff disease. A comparison of asymptomatic and symptomatic shoulders. *J Bone Joint Surg Am* (2006); 88: 1699-1704
167. Yamamoto A, Takagishi K, Osawa T, Yanagawa T, Nakajima D, Shitara H, Kobayashi T. Prevalence and risk factors of a rotator cuff tear in general population. *J Shoulder Elbow Surg* (2010); 19: 116-120
168. Zumstein MA, Jost B, Hempel J, Hodler J, Gerber C. The clinical and structural long-term results of open repair of massive tears of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Am* (1998); 90: 2423-2431

## **9. Anhang**

### **9.1 Abbildungsverzeichnis**

**Abbildung 1:** Rechte Schulter von lateral, nach Entfernung des M. deltoideus und der Oberarmbeuger

**Abbildung 2:** Vergleich der Knochenstruktur der Schulter von Mensch und Ratte

**Abbildung 3:** Wachstumsfaktorenexpression während der Heilung des M. supraspinatus

**Abbildung 4:** Wundheilungskaskade

**Abbildung 5:** Versuchstier mit internationaler Ohrlochung und Käfigkarte

**Abbildung 6:** Operative Überwachung

**Abbildung 7:** Exposition der Supraspinatussehne

**Abbildung 8:** Anschlingen der Supraspinatussehne

**Abbildung 9:** Muskel - Sehnen - Einheit nach Freipräparation

**Abbildung 10:** Flussdiagramm der Versuchsreihe Phase I

**Abbildung 11:** Osmosepumpe vor Implantation

**Abbildung 12:** Hautschnitt für die interscapuläre Pumpenimplantation

**Abbildung 13:** Subcutaner Verlauf des Pumpenschlauches zur rechten Schulter

**Abbildung 14:** Fixierung der Osmosepumpe

**Abbildung 15:** Interscapuläre Platzierung der Osmosepumpe

**Abbildung 16:** Subacromiale Fixierung des Schlauches

**Abbildung 17:** Zeitplan der Phase II

**Abbildung 18:** Flussdiagramm der Versuchsreihe Phase II

**Abbildung 19:** Defektdeckung

**Abbildung 20:** Makroskopisches Beispiel I - Hypertrophes Narbengewebe

**Abbildung 21:** Makroskopisches Beispiel II - Hypertrophes Narbengewebe

**Abbildung 22:** Defektdeckung nach 3 Wochen

**Abbildung 23:** Defektdeckung nach 9 Wochen

**Abbildung 24:** Degeneration - Muskel

**Abbildung 25:** Degeneration - Muskel (3 Wochen)

**Abbildung 26:** Degeneration - Sehne

**Abbildung 27:** Sehnendegeneration mit vollständigem Orientierungsverlust (9 Wochen)

**Abbildung 28:** Fettige Infiltration

**Abbildung 29:** Mukoide Degeneration (3 Wochen)

**Abbildung 30:** Fett mit lipomatöser Atrophie des Muskels (6 Wochen)

**Abbildung 31:** Mukoide Degeneration (6 Wochen)

**Abbildung 32:** Inflammation

**Abbildung 33:** Riesenzelle mit inkorporiertem Faden in der Polarisation

**Abbildung 34:** MOVIN - Score der Phase I

**Abbildung 35:** MOVIN - Score der Phase II

**Abbildung 36:** Semiquantitative Auswertung der Kollagenfärbung - Kollagen I / III - Index

**Abbildung 37:** Rotatorenmanschettenläsion bei Mensch und Ratte - histologische und makroskopische Veränderungen im Vergleich

**Abbildung 38:** Zusammenfassende Übersicht zu Literaturdaten über mesenchymale Stammzellen

## **9.2 Tabellenverzeichnis**

**Tabelle 1:** Sonographische altersbezogene Prävalenz der Rotatorenmanschettenruptur

**Tabelle 2:** Klassifizierung der Rotatorenmanschettenruptur nach Anamnesedauer

**Tabelle 3:** Einteilung der Rotatorenmanschettenruptur nach Bateman

**Tabelle 4:** Einteilung der Rotatorenmanschettenruptur nach Thomazeau

**Tabelle 5:** Versuchsmodell der Phase I

**Tabelle 6:** Zusammensetzung der Wachstumsfaktorlösungen der Osmosepumpen

**Tabelle 7:** Versuchsmodell der Phase II

**Tabelle 8:** „fiber structure“: Movin - Score

**Tabelle 9:** „fiber structure“: p - Werte der Wachstumsfaktoren im Vergleich

**Tabelle 10:** „fiber arrangement“: Movin - Score

**Tabelle 11:** „fiber arrangement“: p - Werte der Wachstumsfaktoren im Vergleich

**Tabelle 12:** „rounding of the nuclei“: Movin - Score

**Tabelle 13:** „rounding of the nuclei“: p - Werte der Wachstumsfaktoren im Vergleich

**Tabelle 14:** „regional variations in cellularity“: Movin - Score

**Tabelle 15:** „regional variations in cellularity“: p - Werte der Wachstumsfaktoren im Vergleich

**Tabelle 16:** „Increased vascularity“: Movin - Score

**Tabelle 17:** „Increased vascularity“: p - Werte der Wachstumsfaktoren im Vergleich

**Tabelle 18:** „hyalinization“: Movin - Score

**Tabelle 19:** „hyalinization“: p - Werte der Wachstumsfaktoren im Vergleich

**Tabelle 20:** „total tendon score“: Movin - Score

**Tabelle 21:** „total tendon score“: p - Werte der Wachstumsfaktoren im Vergleich

## 10. Danksagung

Während der unermüdlichen Arbeit an meiner Promotion wurde ich von zahlreichen Personen unterstützt, denen ich in diesem Rahmen danken möchte:

- Herrn Prof. Dr. med. Andreas B. Imhoff für die Vergabe dieser interessanten Fragestellung und seine Unterstützung.
- Herrn Dr. med. Stefan Buchmann für die hervorragende, kontinuierliche Betreuung meiner Dissertation und seinen fachlichen Beistand während der Versuchsphasen. Ich danke ihm auch für seine stets freundliche Unterstützung und seine wertvollen Ratschläge, durch welche ich einen tieferen Einblick in das Themengebiet erreichte.
- Herrn PD Dr. med. Stefan Hinterwimmer für seine fachliche Unterstützung und Betreuung meiner Promotion.
- Herrn PD Dr. med. Achim Battmann und Herrn Dr. med. Lars Walz für Ihre freundliche Unterstützung bei der histologischen und statistischen Auswertung.
- Herrn Dr. med. Gunther Sandmann für seinen fachlichen Beistand und seine Hilfe während der Versuchsphasen.
- Frau Dr. med. vet. Gabriele Wexel für die Hilfe bei der prä - und postoperativen Betreuung der Versuchstiere.
- Allen Mitarbeitern des ZPF der Technischen Universität München für die Pflege der Versuchstiere und ihre lebensnahen Tipps zum Umgang mit den Versuchstieren.
- Meinen Eltern, meinem Bruder und meiner Schwester, die alle auf ihre Weise zur Entstehung der Arbeit beigetragen haben.