Aus der Anatomischen Anstalt der Ludwig- Maximilians- Universität München
Vorstand: Univ. Prof. Dr. med. Dr. h.c. R. Putz

Die molekulare Zusammensetzung der extrazellulären Matrix im Lig. coracoacromiale

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

vorgelegt von

Julia Jakob

Aichach

2007

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät

der Universität München

Berichterstatter:	Priv.- Doz. Dr. med. S. Milz
Mitberichterstatter:	Priv.- Doz. Dr. A. Frick
	Priv.- Doz. Dr. M. Albrecht
Dekan:	Prof. Dr. med. D. Reinhardt
Tag der mündlichen Prüfung:	25.01.2007

Gewidmet meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG 1

1.1 ANATOMISCHE ÜBERSICHT 1
1.2 BIOMECHANISCHE ASPEKTE 2
1.3 FRAGESTELLUNG 3

2 MATERIAL UND METHODE 5

2.1 MATERIAL 5
2.2 METHODE 6
2.2.1 Präparatentnahme und Vorbehandlung 6
2.2.2 Kryomikrotomschnitte 8
2.2.3 Immunhistochemischer Nachweis 8

3 ERGEBNISSE 11

3.1 HISTOLOGISCHE BEFUNDE 11
3.2 KOLLAGENE 12
3.2.1 Kollagen I (Col 1) 12
3.2.2 Kollagen II C2C1 13
3.2.3 Kollagen III 4H12 15
3.2.4 Kollagen V 3C9 16
3.2.5 Kollagen VI 5C6 18
3.3 GLYKOSAMINOGLYKANE 20
3.3.1 Dermatansulfat 2B6+ABC 20
3.3.2 Chondroitin-4-Sulfat 2B6+ACII 22
3.3.3 Chondroitin-6-Sulfat 3B3+ABC 24
3.3.4 Chondroitin-6-Sulfat native Epitope 3B3+PBS 26
3.3.5 Chondroitin-6-Sulfat native Epitope oversulfated 7D4 28
3.3.6 Keratansulfat 5D4 30
3.4 PROTEOGLYKANE 32
3.4.1 Versican 12C5 32
3.4.2 Tenascin T2H5 34
3.4.3 Aggrecan 1C6 36
3.4.4 Link Protein 8A4 38
3.5 MATRIXPROTEINE 40
3.5.1 Cartilage oligomeric matrix protein 40
3.5.2 Matrilin 1 42
3.6 ZUSÄTZLICHE MORPHOLOGISCHE BEFUNDE 43
3.7 ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE 44

4 DISKUSSION 48

4.1 WERTIGKEIT DER METHODE 48

4.1.1 Entnahme und Methanolfixierung 48

4.1.2 Kryomikrotomie 49

4.1.3 Immunhistologie 49

4.2 INTERPRETATION DER ERGEBNISSE 50

4.2.1 Kollagene 50

4.2.2 Glykosaminoglykane 51

4.2.3 Proteoglykane 53

4.2.4 Matrixproteine 55

4.3 SCHLUSSFOLGERUNG 55

5 ZUSAMMENFASSUNG 60

6 LITERATURVERZEICHNIS 62

7 DANKSAGUNG 72

8 LEBENSLAUF 73

1 EINLEITUNG

1.1 Anatomische Übersicht

Der Schultergürtel ermöglicht den hohen Bewegungsumfang der mit ihm verbundenen oberen Extremität. Der Schultergürtel besteht aus Scapula und Clavicula, die im lateralen Schlüsselbeingelenk beweglich miteinander verbunden sind. Nur das Schlüsselbein ist mit dem Thorax durch das mediale Schlüsselbeingelenk verbunden, während das Schulterblatt in Muskelschlingen aufgehängt ist. Die Scapula ist ein platter, dreieckiger Knochen, an deren Flächen und rahmenartig verdickten Kanten Muskeln entspringen bzw. ansetzen. Die Rahmenkonstruktion wird stabilisiert durch die auf der dorsalen Seite aufgesetzten Spina scapulae, die mit ihrem plattgedrückten Fortsatz, dem Acromion, das Schultergelenk überdeckt (Schiebler & Schmidt 1987). Der Angulus lateralis trägt die Gelenkpfanne für den Humeruskopf, die Cavitas glenoidalis. Der medial sich anschließende Teil wird als Collum scapulae bezeichnet. Im kranialen Teil des Collum scapulae entspringt der Proc. coracoideus, der sich hakenförmig nach vorne krümmt und dem Ansatz und Ursprung von Muskeln und Bändern dient. Acromion und Proc. coracoideus werden durch ein breites Band, das Lig. coracoacromiale, verbunden und bilden so das Schulterdach, Fornix humeri (Benninghoff 2003, Standring 2004).

Das Lig. coracoacromiale ist ein Verstärkungszug der Fascia supraspinata, die wiederum Bestandteil der Fascia subdeltoidea und damit der periartikulären Bindegewebsstrukturen des gesamten Schulterbereiches ist. Gewöhnlich besteht das Band aus einer zusammenhängenden, dreieckigen Bindegewebsplatte. Nicht selten ist das Band V-förmig gespalten. Der kräftigere laterale Anteil zieht zwischen dem Acromion und der Spitze des Proc. coracoideus, der schwächere mediale Teil inseriert an der Wurzel des Rabenschnabelfortsatzes (Tillmann et al. 1986).

Zwischen Fornix und Caput humeri liegt die Bursa subacromialis im Spatium subacromiale, einem osteofibrösen Raum. Die Bursa subacromialis grenzt kranial an Acromion und Lig. coracoacromiale. Kaudal liegt sie auf dem M. supraspinatus und seiner Ansatzsehne. Zusammen mit der Bursa subdeltdoidea, mit der die Bursa subacromialis häufig verbunden ist, bildet sie die „Gelenkhöhle“ im sogenannten „subakromialen Nebengelenk“, das für die

freie Beweglichkeit der Schulter große Bedeutung hat. Bei Abduktion des Armes gleiten Supraspinatussehne, der proximale Teil des Humeruskopfes sowie das Tuberculum majus humeri unter dem Schulterdach in die Fossa supraspinata (Rauber & Kopsch 2003, Romeo et al 1998).

1.2 Biomechanische Aspekte

Über die Funktion des Lig. coracoacromiale bestehen unterschiedliche Auffassungen. Einige Autoren sehen es nur als topographische Begrenzung der Schulter ohne mechanische Funktion (Lanz 1959, Kapandji 1984). Manche sehen es auch als kraniale Begrenzung, welche dem Humeruskopf als Widerlager dient bzw. eine Dislokation nach cranial verhindert. Dabei würde der Humeruskopf bei bestimmten Bewegungen gegen die Unterseite des Bandes gedrückt werden (DePalma 1967, Eulert et al. 1975, Waldeyer 1975, Kummer 1976, Putz et al. 1985). In neueren Untersuchungen wird hauptsächlich von einer Druckbeanspruchung des korakoakromialen Bogens durch den Humeruskopf in pathologischen Situationen ausgegangen (Wasmer 1985, Tillmann 1986, Putz 1990). Diese waren auch mehr auf die Frage nach der Funktion des Lig. coracoacromiale im Gefüge des Schulterdaches ausgerichtet. Nach Tillmann et al. (1984) stellt das Lig. coracoacromiale hauptsächlich eine Sicherung für den Proc. coracoacromialis bei der Aktion des M. pectoralis minor dar, um die Biegebeanspruchung des Proc. coracoideus im Sinne einer Zuggurtung herabzusetzen (Tichy et al. 1985). Putz et al. (1988) betrachtet es eher als Schutzfunktion für das Acromion, was er aus dem wesentlich höheren Biegungsgrad des Acromions nach experimenteller Durchtrennung des Bandes schließt.

Die besondere Zugfestigkeit des Bandes, die bei Untersuchungen von Wasmer et al. (1985) der Reißfestigkeit von Bändern des Kniegelenkes nahe kommt, unterstützt die These der Zuggurtungsfunktion.

In einer Arbeit von Jerosch (1990) wird vermutet, dass wegen gemeinsamer Ursprungsanteile des Lig. coracohumerale und coracoacromiale, der Humerus zum Teil auch am Lig. coracoacromiale aufgehängt ist und es über diesen Mechanismus zur kraniokaudalen Sicherung des Humeruskopfes beiträgt.

Diederichsen et al. (2002, 2004) nimmt in seinen Arbeiten an, dass das Band sogar eine Kontrollfunktion bei Muskelreflexen im Schulterbereich übernimmt. Seine Annahme stützt er auf die ausgeprägte Innervation des Bandes.

Die Grundlage der vorliegenden Arbeit ist die Idee der funktionellen Anpassung der Gewebe des passiven Bewegungsapparates an die mechanische Beanspruchung. Demnach folgt die Anpassung der Form und der Zusammensetzung den vorherrschenden funktionellen Erfordernissen („form follows function"). Einzelne Aspekte dieses Prinzips sind heute unter den Stichworten *"Wolff'sches Gesetz"* (im wesentlichen basierend auf den Arbeiten von Meyer 1867, Wolff 1870, 1884, 1892, Roux 1885, 1896) und *"kausale Histogenese"* (im wesentlichen basierend auf den Arbeiten von Pauwels 1949, 1960, 1963, 1965, 1974, 1976, Kummer 1959, 1962, 1968, 1978, 1980, Milz & Putz 1994, Milz et al.1995, 2002, 2005) bekannt. Die Anpassung der faserreichen Bindegewebe in Form verschiedener Sehnen und Bänder wurde von Benjamin et al. (1986, 1990, 2002, 2006) und Milz et al. (2005) untersucht. Als gesichert gilt inzwischen, dass sowohl morphologischer Gewebsphänotyp als auch molekulare Zusammensetzung der extrazellulären Matrix in direkter Beziehung zur lokalen mechanischen Beanspruchung stehen. In neueren Arbeiten wird unter anderem die Abfolge des Auftretens einzelner charakteristischer Moleküle der ECM in Abhängigkeit von der mechanischen Beanspruchung sowie ihre regionale Verteilung beschrieben (Milz et al. 2002, 2005).

Ziel dieser Arbeit soll eine detaillierte Untersuchung der molekularen Zusammensetzung der extrazellulären Matrix des Lig. coracoacromiale sein, um daraus indirekt auf die normale mechanische Situation des Bandes schließen zu können.

1.3 Fragestellung

Diese Arbeit beschäftigt sich im Detail mit den folgenden Fragen:

1. Untersuchung der molekularen Zusammensetzung der extrazellulären Matrix des humanen Lig. coracoacromiale.
2. Regionale Verteilung der verschiedenen Bestandteile der extrazellulären Matrix innerhalb des Lig. coracoacromiale und seiner Anheftungszonen.
3. Bewertung der molekularen Zusammensetzung des Bandes im Hinblick auf die Funktion des Lig. coracoacromoiale. Darüber hinaus interessiert, ob das Auftreten

von Faserknorpel im Lig. coracoacromiale in einem breiten Altersspektrum physiologisch ist.

4. Klinische Relevanz der Befunde im Zusammenhang mit Manifestationen der rheumatoiden Arthritis.

2 MATERIAL UND METHODE

2.1 Material

Es wurden insgesamt 15 menschliche Ligg. coracoacromialia untersucht, wovon 9 Bänder aus unfixierten Leichen im Zuge des Präparierkurses an der Anatomischen Anstalt der LMU München entnommen wurden und sechs Ligg. aus unfixierten Leichen im Institut für Rechtsmedizin der LMU München.

Die Präparate aus der Anatomischen Anstalt wurden innerhalb 48 Stunden post mortem entnommen. Tabelle 1 gibt Auskunft über Alter, Geschlecht und bekannte medizinische Vorerkrankungen.

ID Nr.	Alter (Jahre)	Geschlecht	Seite	Vorerkrankungen
64/02	81	männlich	rechts	Toxisches Herzkreislaufversagen, metastasierendes Prostatakarzinom
68/02	53	männlich	rechts	Ruptur Aorta ascendens
136/02	90	männlich	links	Dekompensierte Herzinsuffizienz, KHK, Arteriosklerose, Prostatakarzinom, Niereninsuffizienz
5/03	84	weiblich	rechts	Laut Todesbescheinigung natürlicher Tod, ansonsten keine weiteren Angaben
49/03	78	weiblich	links	nicht bekannt
57/03	85	männlich	rechts	Herzinsuffizienz, art. Hypertonie, M. Alzheimer, Epilepsie, Enzephalopathie
61/03	63	weiblich	links	Metastasierendes Bronchialkarzinom
58/03	69	weiblich	links	Herzkreislaufversagen, ausgedehnter Myokardinfarkt, Stauungspneumonie
62/03	68	männlich	links	Pneumonie, schwerer hypoxischer Hirnschaden bei Myokardinfarkt

Tabelle 1 Daten der Spender der Präparate der Anatomischen Anstalt

Die Proben aus der Rechtsmedizin wurden binnen max. 61 Stunden post mortem entnommen. Die einzelnen Daten sind aus Tabelle 2 ersichtlich.

ID Nr.	Alter (Jahre)	Geschlecht	Seite	Todesursache
GS 1246/04	29	männlich	rechts	BTM
GS 1186/04	15	weiblich	rechts	Verkehrsunfall
GS 1204/04	18	männlich	rechts	Verkehrsunfall
GS 1216/04	17	männlich	rechts	Ertrinken
GS 1176/04	43	männlich	rechts	Sprung von Brücke
GS 1245/04	41	männlich	rechts	Thoraxtrauma

Tabelle 2 Daten der Spender der Präparate aus dem Institut für Rechtsmedizin

Es wurde in beiden Instituten besonderes Augenmerk auf die makroskopische Unversehrtheit der Präparate gerichtet. Keines der Bänder zeigte sichtbare pathologische Veränderungen.

2.2 Methode

2.2.1 Präparatentnahme und Vorbehandlung

Nach vorsichtiger Entfernung des M. deltoideus wurde das knöcherne Schulterdach dargestellt. Die Muskelansätze an Proc. coracoideus (M. pectoralis minor, M. biceps brachii caput breve, M. coracoacromialis) und Acromion (M. deltoideus, M. trapezius) wurden abgesetzt und das Lig. coracoacromiale mit ca. 2-3 cm langen knöchernen Ansätzen herausgesägt. Anschließend wurde das Weichteilgewebe entfernt und, um das Band besser bearbeiten zu können, in der Mitte durchgeschnitten (Bandansatz: Acromion, Proc. coracoideus).

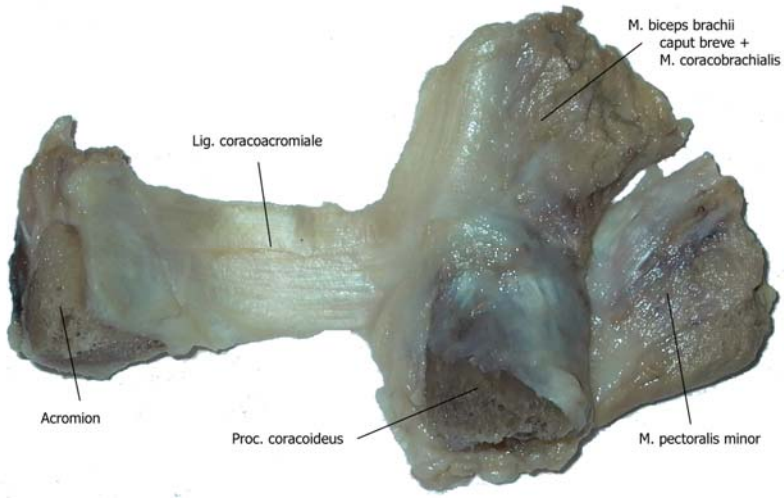


Abb. 1: Präpariertes Lig. coracoacromiale mit angrenzenden Strukturen in Ansicht von unten (rechte Schulter)

Alle Bänder wurden nach Entnahme in 90% Methanol bei 4°C fixiert und anschließend bis zur endgültigen Verarbeitung bei -20°C aufbewahrt.

Um Mikrotomschnitte von den Bändern mit ihren erhaltenen knöchernen Ansätzen herstellen zu können, war ein Entkalkungsvorgang notwendig. Dazu wurden die Präparate mit 5%iger EDTA-Lösung über bis zu drei Monate mit 2-3 wöchentlichen Erneuerungen der EDTA-Lösung bei Raumtemperatur auf einem Rüttler entkalkt.

Um die Topographie der Verteilung der Faserknorpelproteine des Bandes erfassen zu können wurden die neun Präparate aus dem Anatomischen Institut, die zuerst untersucht wurden, in drei Partien unterteilt (laterale Partie, Mitte, mediale Partie).

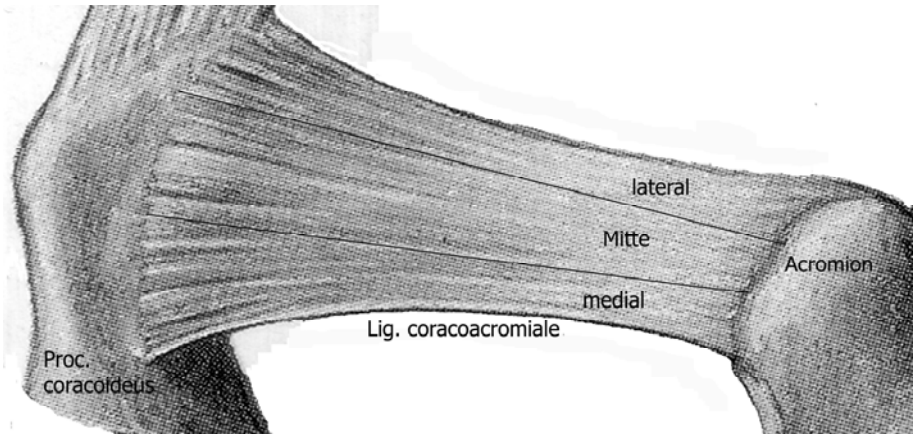


Abb. 2: Einteilung des Lig. coracoacromiale in Bandpartien: lateral, Mitte, medial.

Die sechs Präparate aus der Rechtsmedizin, die von jüngeren Probanden stammen, wurden vor allen Dingen benutzt, um eventuell bestehende Unterschiede im Vorkommen von Faserknorpelproteinen bei jungen und älteren Bändern festzustellen, und so Veränderungen, die auf Degeneration beruhen, zu detektieren. Aufgrund dieser Verwendung der Bänder und aufgrund der geringen zuvor beobachteten Unterschiede wurde auf eine topographische Unterteilung der Präparate verzichtet und der mittlere Bereich des Bandes untersucht.

Bei der Beurteilung aller Präparate wurden Knochen-, Enthesis- und Bandabschnitte unterschieden, sowohl auf Seite des Acromions als auch am Proc. coracoideus.

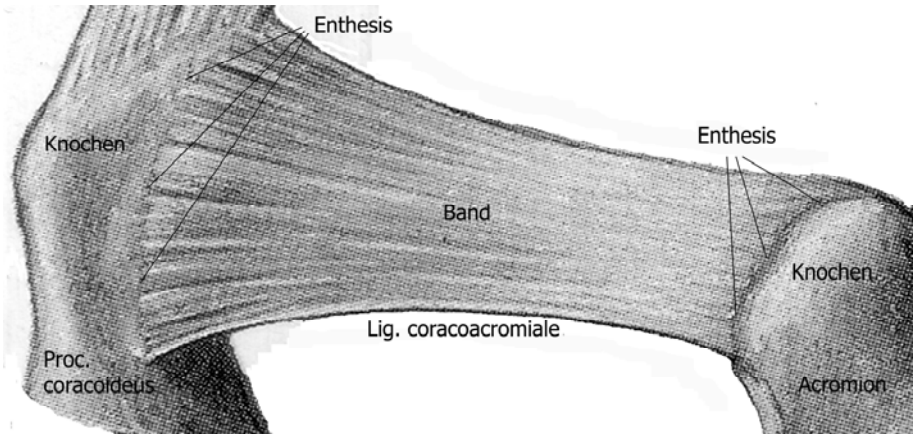


Abb. 3: Einteilung des Präparats in Knochen(K)-, Enthesis(E)- und Band(B)abschnitte.

2.2.2 Kryomikrotomschnitte

Die Präparate wurden auf einem Objektträger mit Hilfe eines Einbettmediums (tissue freezing medium® Firma Jung) bei ca. -23°C fixiert. Anschließend erfolgte die Herstellung der Gefrierschnitte an einem Kryomikrotom (Microm HM 500 OMV). Dabei arbeitete man sich mit ca. 50µm Schnittstärke durch Einbettmedium und Teile des Präparates soweit vor, bis die richtige Ebene mit Knochen-Ansatz-Band erreicht war. Mit 12-14µm Schnittstärke wurden dann Sagittalschnitte in Längsrichtung des Bandes angefertigt, auf Objektträger aufgebracht und bis zur Weiterverarbeitung im Tiefkühlschrank bei -20°C „festgefroren".

2.2.3 Immunhistochemischer Nachweis

Von allen Bändern wurden Übersichtsfärbungen mit 1% Toluidinblau angefertigt, um eine Metachromasie nachzuweisen.

Zum immunhistochemischen Nachweis wurden die Schnitte mit polyklonalem Antiköper gegen Cartilage Matrix Protein (CMP) und mit monoklonalen Antikörpern gegen Kollagen I, II, III, V, VI, gegen Glykosaminoglykane Chondroitin-6-Sulfat, Chondroitin-4-Sulfat, Dermatansulfat, Keratansulfat, gegen Proteoglykane Versican, Tenascin, Aggrecan, link protein und gegen Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP) inkubiert (Tabelle 3). Zur Markierung von Aggrecan und Link Protein bedurfte es einer speziellen Vorbehandlung. Dazu wurden die Schnitte in einem Reduktionsschritt in 10 mM Dithiothreitol in 50 mM Tris HCl, 200 mM Natriumchlorid, pH 7.4 für 2 Stunden bei 37°C reduziert und dann mit 40 mM Iodacetamid in PBS für 1 Stunde bei 37°C alkyliert. Um eine unspezifische

Antikörperbindung des Sekundärantikörpers auszuschließen, wurden die Kontrollen anstelle von Primärantikörpern mit PBS inkubiert.

Zur Immunmarkierung wurden die tiefgefrorenen Schnitte in PBS rehydriert und anschließend für 30 min in 1% H_2O_2 in Methanol inkubiert, um die endogene Peroxidase im Gewebe zu inhibieren. Es folgte ein Waschschritt in PBS 3x5min. Eine Vorbehandlung mit den entsprechenden Enzymen (HC, ABC und ACII) für 30 min bei 37°C in einer feuchten Kammer war notwendig, um die verschiedenen Epitope zu demaskieren. Nach einem erneuten Waschschritt war eine Blockierung mit Normalserum (Pferdeserum 1:20 für 60 min bei RT) zur Reduktion unspezifischer Proteinbindungen notwendig. Die spezifischen Primärantikörper wurden für 30 min aufgetragen und danach ausgewaschen (3x5min PBS). Der Nachweis der gebundenen Primärantikörper erfolgte über ein Avidin/Biotin/Peroxidase-Kit (Vectastain ABC 'Elite', Vector Labs, USA). Dabei bindet an das Fc-Fragment des Primärantikörpers ein biotinilierter Sekundärantikörper, wobei ein biotinilierter Anti-Mausantikörper für die monoklonalen und ein Anti-Kaninchenantikörper für die polyklonalen Antikörper verwendet wird. An diesen bindet wiederum ein Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex. Nach Zugabe des Chromogens DAB erhält man einen lichtmikroskopisch erkennbaren dunkelbraunen Farbniederschlag. Danach erfolgt noch eine Kernfärbung mit Mayer’s Hämatoxylin. Schließlich wurden die Schnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70% - 80% - 90% - 100%) entwässert, in Xylol überführt und mit dem Eindeckmedium DPX dauerhaft eingedeckt.

Antigen	Clone	Verd.	Enzymvorbehandlung	Quelle	Referenz
Kollagen I	Col1	1:2000	H1.5U/ml+ChABC0.25U/ml	Sigma	Mayne 1988
Kollagen II	CIICI	1:6	H1.5U/ml+ChABC0.25U/ml	DSHB	Holmkahl et al. 1986
Kollagen III	4H12	1:500	H1.5U/ml+ChABC0.25U/ml	ICN	Milz et al. 2005
Kollagen V	3C9	1:500	H1.5U/ml+ChABC0.25U/ml	ICN	Milz et al.2005
Kollagen VI	5C6	1:10	H1.5U/ml+ChABC0.25U/ml	DSHB	Hessle&Engvall 1984
Chondroitin-6-Sulfat natives Epitop	3B3	1:200	Keine	B.Caterson	Caterson et al. 1990
Chondroitin-6-Sulfat	3B3	1:200	ChABC0.25U/ml	B.Caterson	Caterson et al. 1985
Dermatansulfat	2B6	1:1500	ChABC0.25U/ml	B.Caterson	Caterson et al. 1985
Chondroitin-4-Sulfat	2B6	1:1500	ChACII0.25U/ml	B.Caterson	Caterson et al. 1985
Keratansulfat	5D4	1:1500	Keine	B.Caterson	Caterson et al. 1983
Chondroitin-6-Sulfat "oversulfated Epitope"	7D4	1:350	Keine	B.Caterson	Caterson et al. 1990
Versican	12C5	1:5	ChACII0.25U/ml	DSHB	Asher et al. 1991
Tenascin	T2H5	1:100	ChACII0.25U/ml	Serotec	Verstraeten et al. 1985
Aggrecan	1C6	1:5	ChACII0.25U/ml	B.Caterson	Caterson et al. 1986
Link Protein	8A4	1:5	ChACII0.25U/ml	B.Caterson	Caterson et al. 1985
COMP	-	1:20	Keine	Serotec	
CMP	-	1:100	Keine	M. Paulsson	
Kontrolle	Keiner		Keine		

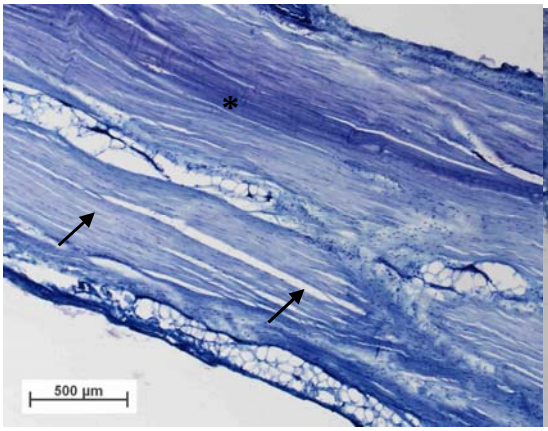
Tabelle 3 Liste der verwendeten Primärantikörper sowie der jeweiligen Vorbehandlung. Alle Enzym - Vorbehandlungen erfolgen bei 37°C über 30 Minuten. Abkürzungen: ChAC = Chondroitinase AC, ChABC = Chondroitinase ABC, H = Hyaluronidase, DSHB = Developmental Studies Hybridoma Bank at the University of Iowa (USA).

3 ERGEBNISSE

Die Bänder wurden in 18 (Präparate Anatomische Anstalt) bzw. 6 (Präparate Institut für Rechtsmedizin) verschiedene topographische Zonen eingeteilt. Die Unterscheidung der ersten Serie in 18 verschiedene Bandpartien wurde zur Bestimmung einer genauen topographischen Verteilung der verschiedenen Antigene in medial-lateraler Richtung benutzt. Die Zonen wurden jeweils einzeln begutachtet und ausgewertet. Dabei wurde unterschieden nach Knochen (K), Enthesis (E) und Band (B).

3.1 Histologische Befunde

Die Übersichtspräparate, die mit Toluidinblau gefärbt wurden, zeigten alle eine metachromatisch reagierende Zone im Bereich des knöchernen Ansatzes des Bandes, der Enthesis. Hier fanden sich auch im Gegensatz zu den länglichen, stark gefärbten Fibrozyten im Band Zellen mit großen, rundlichen Zellkernen, Faserknorpelzellen (FKZ) die weniger intensiv gefärbt erschienen. In einem Teil der Präparate ließ sich in schwächerer Ausprägung eine Metachromasie auch im Band feststellen, was auf eine vermehrt sauer reagierende extrazelluläre Matrix hinweist.



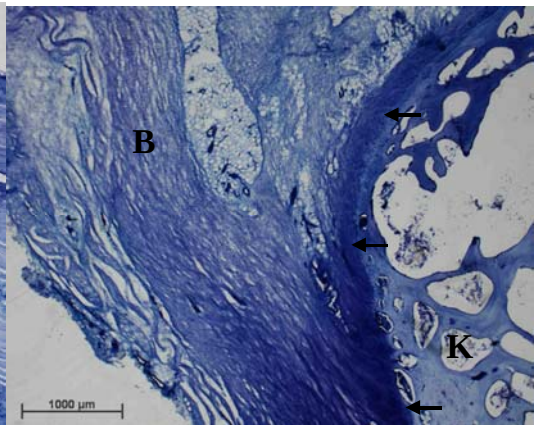


Abb 1 links (1246.c): Toluidinblau-Färbung eines Bandes mit länglichen Fibrozyten (→) und Metachromasiezone im Band (*).

Abb 2 rechts (1216.a): kräftige Metachromasie im Enthesisbereich (→).

3.2 Kollagene

3.2.1 Kollagen I (Col 1)

Für Kollagen Typ I zeigt sich in allen untersuchten Präparaten eine nahezu identische Markierung, welche die gesamte Probe einschließlich des Knochens positiv färbt. In ca. der Hälfte der Präparate ist öfter am acromialen Ansatz ein sog. „Gap-Phänomen“ nachweisbar: eine Zone ohne Farbmarkierung im Bereich der Enthesis. Im Vergleich der jungen Präparate mit den älteren erscheint die Dimension der nicht markierten Zone in den jüngeren Bändern schmäler. Ansonsten ergeben sich keine Unterschiede zwischen den älteren und jüngeren Ligamenta coracoacromialia.

		Proc. coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Lat.	+	+	+	+	+[1]	+
	Mitte	+	+	+	+	+[1]	+
	Med.	+	+	+	+	+[1]	+
68/02	Lat.	n.a.	n.a.	+	+	+	+
	Mitte	+	+	+	+	+	+
	Med.	+	+	+	+	+	+
136/02	Lat.	+	+[1]	+	+	n.a.	n.a.
	Mitte	+	+	+	+	+	+
	Med.	+	+	+	+	+	+
5/03	Lat.	+	+[1]	+	+	+[1]	+
	Mitte	+	+[1]	+	+	+[1]	+
	Med.	+	+[1]	+	+	+[1]	+
49/03	Lat.	+	+[1]	+	+	+	+
	Mitte	+	+[1]	+	+	+[1]	+
	Med.	+	+	+	+	+	+
57/03	Lat.	+	+	+	+	+	+
	Mitte	+	+	+	+	+[1]	+
	Med.	+	+	+	+	+[1]	+
61/03	Lat.	+	+	+	+	+[1]	+
	Mitte	n.a.	+	+	+	+[1]	+
	Med.	+	+	+	+	+[1]	+
58/03	Lat.	+	+	+	+	+[1]	+
	Mitte	n.a.	n.a.	n.a.	+	+[1]	+

	Med.	+	+	+	+	+[1]	+
62/03	Lat.	+	+[1]	+	+	+	n.a.
	Mitte	+	+[1]	+	+	+[1]	+
	Med.	+	+	+	+	+[1]	+
GS1246/04		+	+[1]	+	+	+	+
GS1186/04		+	+	+	+	+	+
GS1204/04		+	+	+	+	+	+
GS1216/04		+	+[1]	+	+	+	+
GS1176/04		+	+[1]	+	+	+[1]	+
GS1245/04		+	+[1]	+	+	+[1]	+

Tabelle 4 *Kollagen I: n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)=fleckig markiert ,-= kein Nachweis, [1] Gap-Phänomen. Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial.*

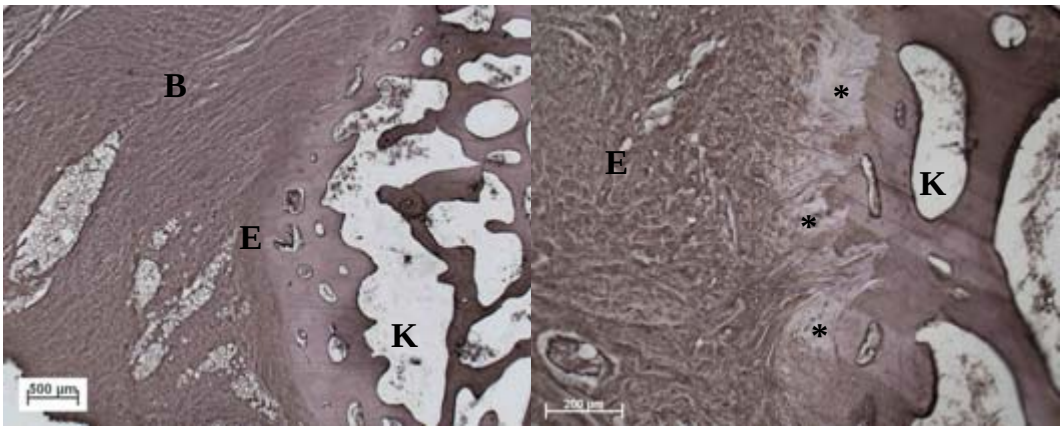


Abb. 3 links (1216.a): Kollagen 1Nachweis in Knochen, Enthesis und Band.

Abb. 4 rechts (1216.c): Gap-Phänomen (*).

3.2.2 Kollagen II (CIICI)

Kollagen II markiert sich in allen untersuchten Bändern in der Enthesisregion eindeutig positiv. Einzige Ausnahme waren drei mediale Bandabschnitte am Acromion, bei denen sich lediglich eine weniger ausgeprägte, fleckige Markierung für Kollagen II nachweisen lässt. Der Knochen ist durchgehend nicht markiert. Von den neun älteren Bändern zeichnen sich vier durch eine relativ starke Kollagen II Markierung im ganzen Verlauf des Bandes aus. Bei vier anderen Präparaten lässt sich Kollagen II vor allem am lateralen Rand des Bandes nachweisen. Eines der Bänder zeigt keine Markierung in der Bandmitte. Drei von den jüngeren Präparaten weisen eine fleckige Markierung auf, der Rest ist nicht markiert.

		Proc. coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Lat.	-	+	(+)	(+)	+	-
	Mitte	-	+	-	-	+	-
	Med.	-	+	-	-	(+)	-
68/02	Lat.	n.a.	n.a.	(+)	(+)	+	-
	Mitte	-	+	-	-	+	-
	Med.	-	+	-	-	(+)	-
136/02	Lat.	-	+	-	(+)	+	n.a.
	Mitte	-	+	-	-	+	-
	Med.	-	+	-	-	(+)	-
5/03	Lat.	-	+	-	-	+	-
	Mitte	-	+	-	-	+	-
	Med.	-	+	-	-	+	-
49/03	Lat.	-	+	-	(+)	n.a.	n.a.
	Mitte	-	+	(+)	+	+	-
	Med.	-	+	(+)	(+)	+	-
57/03	Lat.	-	+	+	+	n.a.	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	(+)	(+)	+	-
61/03	Lat.	n.a.	+	(+)	+	+	-
	Mitte	n.a.	n.a.	(+)	-	+	-
	Med.	-	n.a.	(+)	-	+	-
58/03	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	n.a.	n.a.	n.a.	(+)	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
62/03	Lat.	-	+	+	(+)	+	n.a.
	Mitte	-	+	-	-	+	-
	Med.	-	+	-	-	+	-
GS 1246/04		–	+	-	-	+	–
GS 1186/04		–	+	-	(+)	+	–
GS 1204/04		–	+	-	-	+	–
GS 1216/04		–	+	(+)	(+)	+	–
GS 1176/04		–	+	-	-	+	–
GS 1245/04		–	+	(+)	(+)	+	–

Tabelle 5 Kollagen II:
n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)=fleckig markiert, -= kein Nachweis.
Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial.

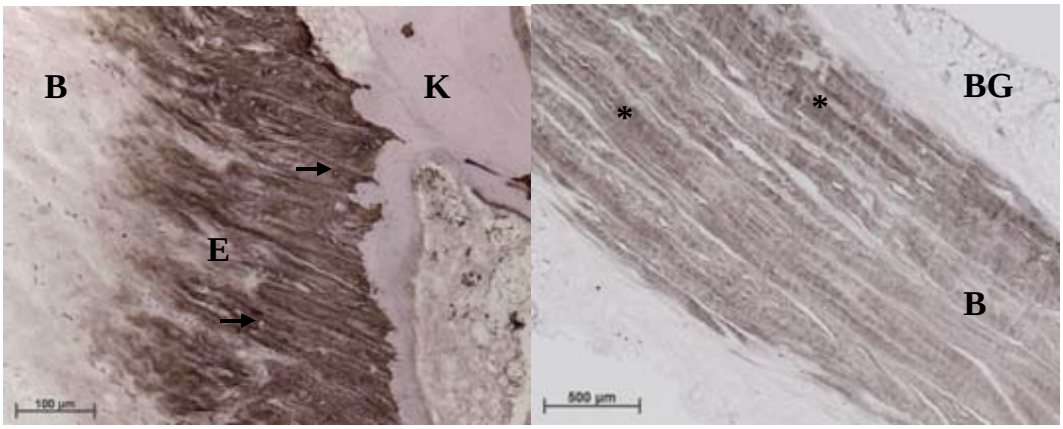


Abb. 5 links (1216.a): kräftiger Nachweis von Kollagen II im Bereich der Enthesis mit runden FKZ(→).

Abb. 6 rechts (1216.c): klar erkennbare Kollagen II Markierung in Bandmitte (*), das benachbarte Bindegewebe (BG) ist nicht markiert.

3.2.3 Kollagen III (4H12)

Kollagen III kann mit dem Primärantikörper 4H12 dargestellt werden. In den untersuchten Präparaten fand sich an allen Anheftungszonen und Bändern ein durchgehend positiver Nachweis für Kollagen III. Eine Ausnahme stellten zwei Enthesisregionen und Bandpartien dar, wo der Nachweis lediglich stellenweise gelang. Bei den jüngeren Spendern war durchgehend eine positive Markierung in Enthesis und Band nachzuweisen.

		Proc. coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	(+)	(+)	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
68/02	Lat.	n.a.	n.a.	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
136/02	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
5/03	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
49/03	Lat.	-	+	+	+	n.a.	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-

57/03	Lat.	-	+	+	+	n.a.	n.a.
	Mitte	-	(+)	(+)	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
61/03	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	n.a.	+	+	+	+	-
58/03	Lat.	n.a.	+	+	+	+	-
	Mitte	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
62/03	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
GS 1246/04		-	+	+	+	+	-
GS 1186/04		-	+	+	+	+	-
GS 1204/04		-	+	+	+	+	-
GS 1216/04		-	+	+	+	+	-
GS 1176/04		-	+	+	+	+	-
GS 1245/04		-	+	+	+	+	-

Tabelle 6 *Kollagen III:*
n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)=fleckig markiert, -= kein Nachweis.
Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial.

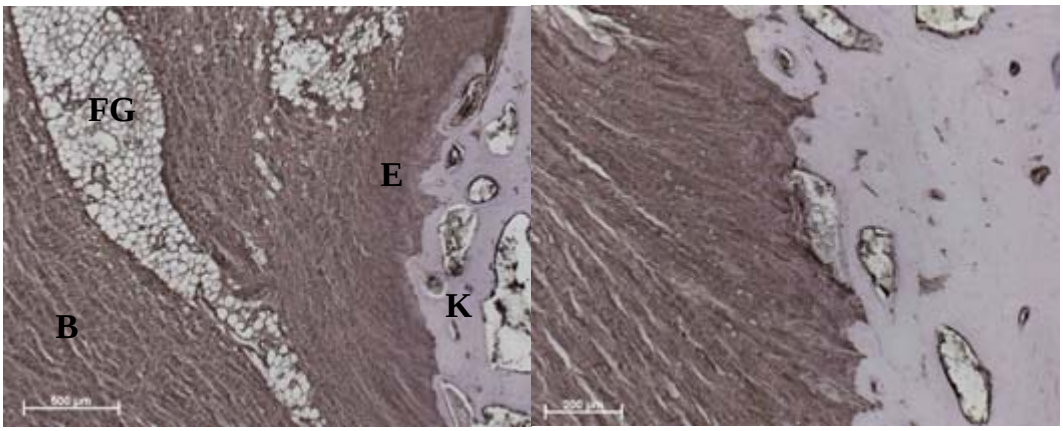


Abb. 7 links (1216.a): Kollagen III Nachweis in Band und Enthesis, Fettgewebe (FG) im Band.

Abb. 8 rechts (1216.a): Kollagen III Nachweis in Enthesis, runde FKZ(→).

3.2.4 Kollagen V (3C9)

Kollagen V weist ein diffuses Markierungsmuster auf. Im Band ist vorwiegend eine fleckige Färbung nachweisbar. Die Enthesisregion zeigt sporadisch einzelne positive Markierungen,

wobei hier zum größten Teil nur die Faserknorpelzellen gefärbt sind. Osteozyten sind nicht markiert. Im Vergleich der älteren mit den jüngeren Präparaten ergibt sich kein Unterschied im Markierungsmuster.

		Proc. coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Lat.	-	-	-	-	-	-
	Mitte	-	-	(+)	(+)	-	-
	Med.	-	-	(+)	(+)	-	-
68/02	Lat.	-	-	-	-	-	-
	Mitte	-	(+)	(+)	(+)	-	-
	Med.	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
136/02	Lat.	-	-	(+)	(+)	(+)	-
	Mitte	-	-	-	(+)	+	-
	Med.	-	-	(+)	(+)	-	-
5/03	Lat.	-	-	-	-	-	-
	Mitte	-	-	(+)	-	-	-
	Med.	-	-	-	(+)	-	-
49/03	Lat.	-	-	-	(+)	-	-
	Mitte	-	-	-	-	-	-
	Med.	-	(+)	(+)	(+)	-	-
57/03	Lat.	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
	Mitte	-	-	(+)	(+)	-	-
	Med.	-	-	(+)	(+)	(+)	-
61/03	Lat.	-	-	-	-	-	-
	Mitte	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
	Med.	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
58/03	Lat.	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
	Mitte	n.a.	n.a.	n.a.	(+)	(+)	-
	Med.	-	-	(+)	(+)	(+)	-
62/03	Lat.	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
	Mitte	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
	Med.	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
GS 1246/04		-	-	(+)	(+)	-	-
GS 1186/04		-	-	-	-	-	-
GS 1204/04		-	-	(+)	(+)	-	-
GS 1216/04		-	(+)	(+)	(+)	(+)	-

GS 1176/04		-	-	(+)	(+)	-	-
GS 1245/04		-	-	(+)	(+)	(+)	-

Tabelle 7 *Kollagen V:*
n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)=fleckig markiert, -= kein Nachweis.
Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial.

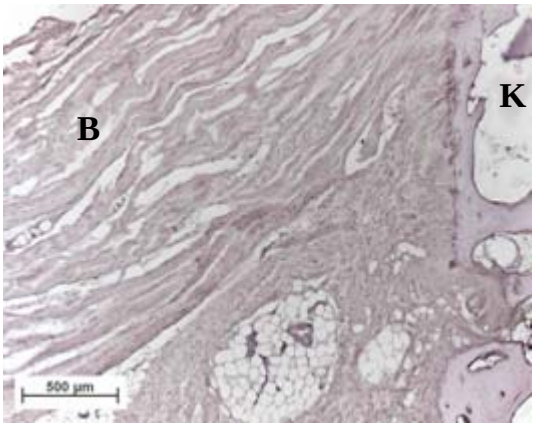


Abb. 9 links (68.cm): Kollagen V: fleckige Markierung im Band.

Abb. 10 rechts (64.cm): Kollagen V Nachweis perizellulär der FKZ.

3.2.5 Kollagen VI (5C6)

Für Kollagen VI zeigt sich ein einheitliches Bild: Enthesis und Band sind durchwegs positiv markiert. Nur wenige Stellen weisen eine fleckige Markierung auf. In der Enthesisregion ist in zwei der älteren Präparate eine schmale Zone mit knöchernem/kalzifizierenden Umbauprozess/Durchbauelementen stellenweise nicht gefärbt. Der Knochen ist stets nicht markiert. Ein Unterschied zwischen älteren und jungen Präparaten ist nicht erkennbar.

		Proc. coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Lat.	n.a.	+	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
68/02	Lat.	n.a.	n.a.	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
136/02	Lat.	n.a.	+	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-

5/03	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	-	+	(+)	+	+	-
	Med.	-	+	+	(+)	(+)	-
49/03	Lat.	n.a.	+	+	+	n.a.	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
57/03	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
61/03	Lat.	n.a.	+	+	+	(+)	-
	Mitte	n.a.	+	+	+	+	-
	Med.	n.a.	+	+	+	+	-
58/03	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
62/03	Lat.	n.a.	+	(+)	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	(+)	+	+	+	-
GS 1246/04		-	+	+	+	+	-
GS 1186/04		-	+	+	+	+	-
GS 1204/04		-	+	+	+	+	-
GS 1216/04		-	+	+	+	+	-
GS 1176/04		-	+	+	+	+	-
GS 1245/04		-	+	+	+	+	-

Tabelle 8 *Kollagen V:*
n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)=fleckig markiert, -= kein Nachweis.
Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial.

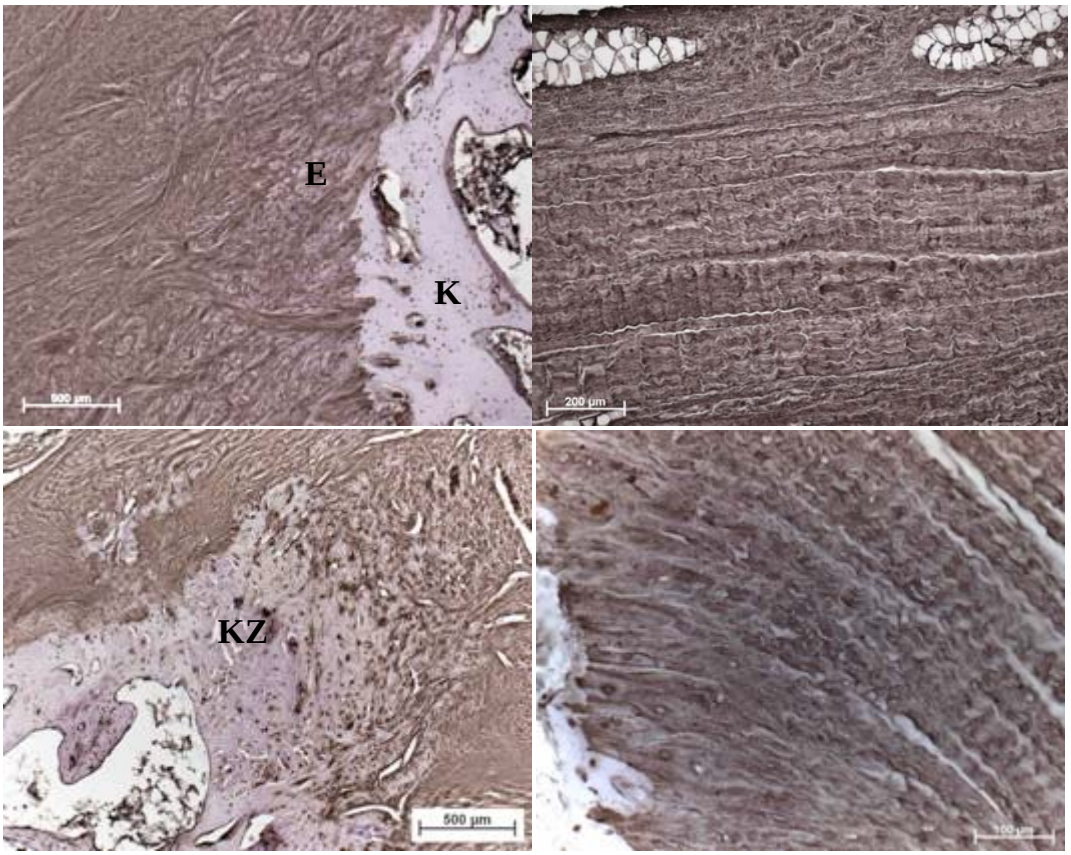


Abb 11 links oben (1216.a): Kollagen VI Nachweis in Enthesis.

Abb 12 rechts oben (1204.c): Kollagen VI Nachweis im Band.

Abb 13 links unten (64.cmi):Kalzifkationszone (KZ) in einem Band eines älteren Spenders.

Abb 14 rechts unten (1216.a): FKZ mit ausgeprägter perizellulärer Markierung der extrazellulären Matrix.

3.3 Glykosaminoglykane

3.3.1 Dermatansulfat und Chondroitin-4-Sulfat (2B6+ChABC)

Der Antikörper 2B6 erkennt bei Vorbehandlung mit Chondroitinase ABC sowohl Dermatansulfat wie auch Chondroitin-4-Sulfat. Im vorliegenden Fall lässt sich in allen Band- und Enthesisregionen eine positive Markierung nachweisen. In zwei medialen Bandpartien des akromialen Ansatzes ergibt sich eine fleckige Markierung. Im Knochen ist keine Reaktion nachweisbar.

		Proc. coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Lat.	n.a.	n.a.	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	(+)	-

68/02	Lat.	n.a.	n.a.	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
136/02	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
5/03	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
49/03	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
57/03	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
61/03	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	n.a.	+	+	+	+	-
58/03	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
62/03	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	n.a.	n.a.	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	(+)	-
GS 1246/04		-	+	+	+	+	-
GS 1186/04		-	+	+	+	+	-
GS 1204/04		-	+	+	+	+	-
GS 1216/04		-	+	+	+	+	-
GS 1176/04		-	+	+	+	+	-
GS 1245/04		-	+	+	+	+	-

Tabelle 9 Dermatansulfat in Verbindung mit Chondroitin-4-Sulfat:
n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)=fleckig markiert, -= kein Nachweis.
Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial.

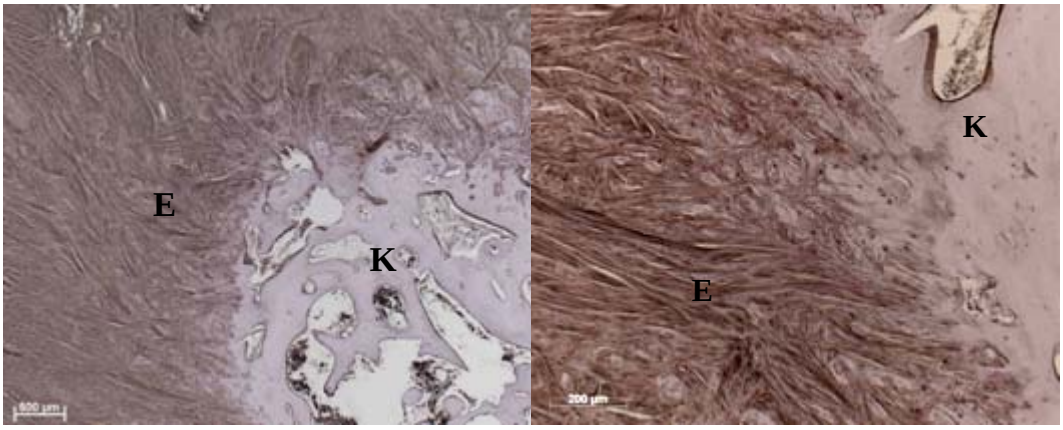


Abb 15 links (1216.c): deutlicher Nachweis von Dermatansulfat in Verbindung mit Chondroitin-4-Sulfat in der Enthesisregion.

Abb. 16 rechts (1216.c):korbgeflechtartiges Netzwerk der Kollagenfasern.

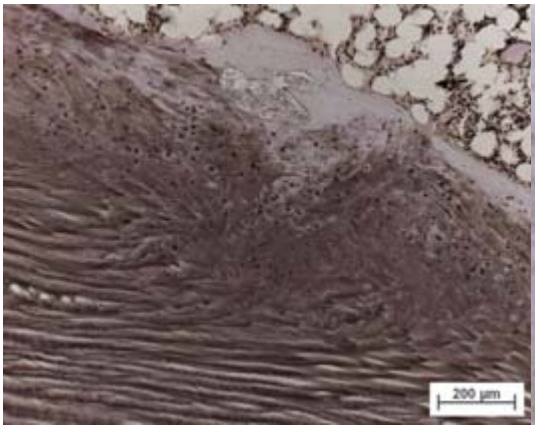
3.3.2 Chondroitin-4-Sulfat (2B6+ChAC)

Der Antikörper 2B6 erkennt bei Vorbehandlung mit Chondroitinase AC nur Chondroitin-4-Sulfat, nicht jedoch Dermatansulfat. Eine positive Markierung für Chondroitin-4-Sulfat ist in allen Bandpartien und der Enthesisregion der älteren Präparate zu finden. Im Gegensatz dazu ist bei den jüngeren Bändern lediglich eine stellenweise Markierung nachweisbar. Der Knochenteil reagiert in allen untersuchten Proben negativ.

		Proc. Coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Lat.	n.a.	+	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	(+)	+	-
68/02	Lat.	n.a.	n.a.	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
136/02	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
5/03	Lat.	-	+	(+)	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
49/03	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	(+)	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-

57/03	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
61/03	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	n.a.	+	+	+	+	+
58/03	Lat.	-	n.a.	+	+	+	-
	Mitte	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
62/03	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	n.a.	n.a.	+	+	+	-
	Med.	-	n.a.	+	+	+	-
GS 1246/04		-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
GS 1186/04		-	(+)	+	(+)	(+)	-
GS 1204/04		-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
GS 1216/04		-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
GS 1176/04		-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
GS 1245/04		-	(+)	(+)	(+)	(+)	-

Tabelle 10 Chondroitin-4-Sulfat:
n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)=fleckig markiert, -= kein Nachweis.
Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial.



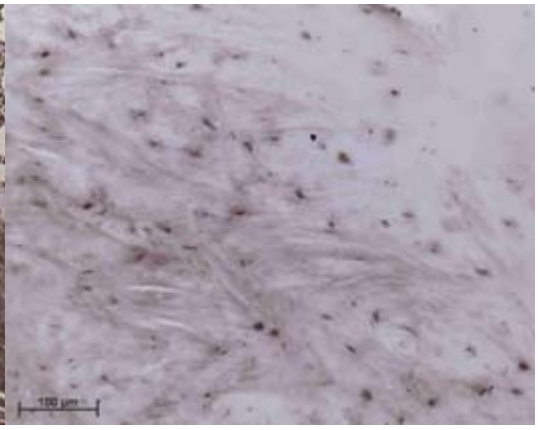


Abb. 17 links (64.al): starker Nachweis von Chondroitin-4-Sulfat in Enthesis und Band.

Abb. 18 rechts (1216.c): schwacher Nachweis in einem Band eines jüngeren Spenders, rundliche FKZ (→).

3.3.3 Chondroitin-6-Sulfat (3B3)

Nach Enzymvorbehandlung mit Chondroitinase ABC reagiert der Antikörper 3B3 bei allen Bändern im Bereich der Enthesis positiv. In der Bandmitte zeigt sich größtenteils ebenfalls eine positive Markierung für Chondroitin-6-Sulfat, wobei auch einige Zonen nur stellenweise oder gar nicht markiert sind. Eine regelhafte Beziehung zur jeweiligen Bandpartie ist dabei nicht feststellbar. Der Knochen zeigt keinen positiven Nachweis. Eine Differenz zwischen alten und jüngeren Präparaten ist nicht nachweisbar.

		Proc. coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Lat.	n.a.	n.a.	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	-	+	-
	Med.	-	+	-	+	(+)	-
68/02	Lat.	n.a.	n.a.	(+)	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
136/02	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.

	Mitte	-	+	(+)	+	+	-
	Med.	-	+	(+)	-	+	-
5/03	Lat.	-	+	(+)	(+)	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	(+)	+	+	-
49/03	Lat.	n.a.	+	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	(+)	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
57/03	Lat.	-	+	(+)	+	n.a.	n.a.
	Mitte	n.a.	n.a.	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
61/03	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	n.a.	+	+	+	+	-
58/03	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	-
	Med.	-	+	-	(+)	+	-
62/03	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
GS 1246/04		-	+	+	+	+	-
GS 1186/04		-	+	(+)	+	+	-
GS 1204/04		-	+	(+)	(+)	+	-
GS 1216/04		-	+	+	+	+	-
GS 1176/04		-	+	(+)	(+)	+	-
GS 1245/04		-	+	(+)	+	+	-

Tabelle 11 Chondroitin-6-Sulfat:
n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)=fleckig markiert, -= kein Nachweis,
Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial.

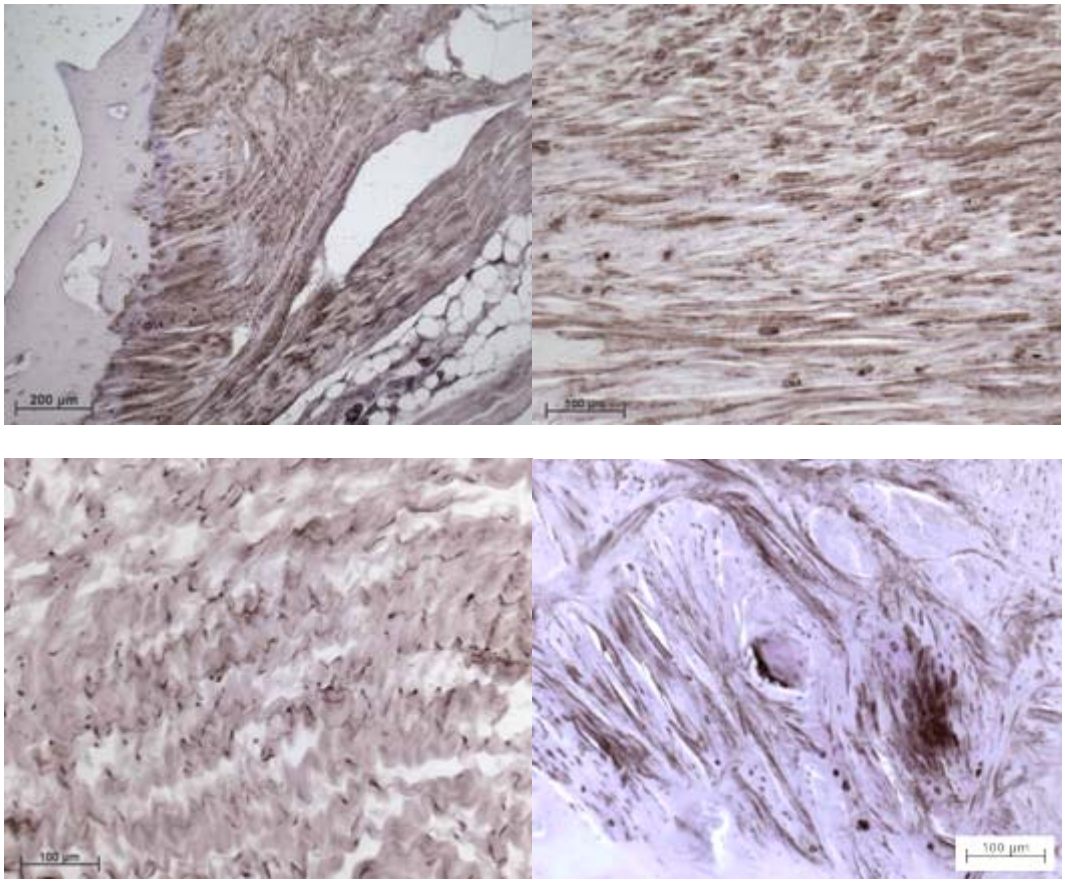


Abb. 19 links oben (68.cmi): Übersicht Chondroitin-6-Sulfat.

Abb. 20 rechts oben (68.cm): Markierung in Enthesisregion für Chondroitin-6-Sulfat, FKZ (→).

Abb. 20 links unten (68.cmi): Verteilung in Bandmitte, längliche Fibrozyten (→).

Abb. 21 rechts unten (1216.c): Markierung vor allem perizellulär der FKZ.

3.3.4 Chondroitin-6-Sulfat - native Epitope (3B3-)

Ohne Enzymvorbehandlung können mit dem Antikörper 3B3 native Epitope des Chondroitin-6-Sulfats nachgewiesen werden. Es ergibt sich ein diffuses Muster: die Bandmitte zeigt meist eine fleckige Markierung, wobei aber auch positive und keine Markierungen auftreten. Ein ähnliches Bild zeigt sich in der Anheftungszone, auch hier variiert die Intensität der Färbung. Eine topographische Zuordnung der Intensität zu den Bandpartien oder Bandansätzen ist nicht möglich. Aufgrund Antikörpermangels wurde auf eine Untersuchung der jüngeren Proben verzichtet.

		Proc. coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Lat.	-	-	-	+	+	-
	Mitte	-	-	(+)	-	-	-
	Med.	-	(+)	(+)	+	-	-
68/02	Lat.	-	-	(+)	(+)	-	-
	Mitte	-	-	-	(+)	(+)	-
	Med.	-	-	-	(+)	+	-
136/02	Lat.	-	-	(+)	-	(+)	n.a.
	Mitte	-	(+)	-	-	(+)	-
	Med.	-	(+)	(+)	(+)	+	-
5/03	Lat.	-	-	(+)	(+)	-	-
	Mitte	-	-	(+)	(+)	(+)	-
	Med.	-	-	(+)	(+)	(+)	-
49/03	Lat.	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
	Mitte	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
	Med.	-	+	+	(+)	(+)	-
57/03	Lat.	n.a.	+	+	(+)	n.a.	n.a.
	Mitte	-	+	+	(+)	(+)	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
61/03	Lat.	n.a.	+	(+)	+	+	-
	Mitte	-	+	(+)	+	+	-
	Med.	n.a.	+	(+)	(+)	(+)	-
58/03	Lat.	-	(+)	(+)	-	-	-
	Mitte	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	-
	Med.	-	-	-	(+)	+	-
62/03	Lat.	n.a.	+	(+)	+	+	-
	Mitte	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-

	Med.	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-

Tabelle 12 Chondroitin-6-Sulfat, natives Epitop 3B3+PBS:
n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)=fleckig markiert, -= kein Nachweis,
Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial.

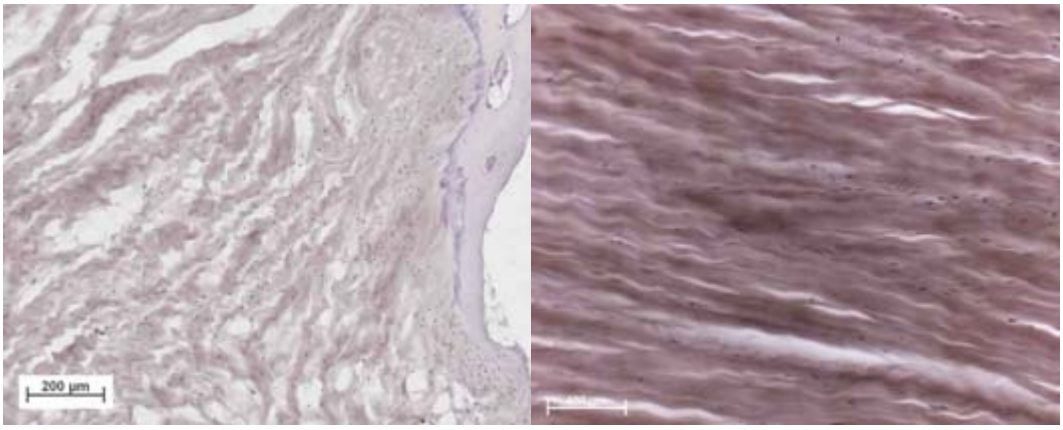


Abb 22 links (68.cmi):fleckige Markierung für das native Epitop, Chondroitin-6-Sulfat.

Abb. 23 rechts (64.al): Markierung in Bandmitte, Fibrozyten (→).

3.3.5 Chondroitin-6-Sulfat – "oversulphated Epitope"

Mit dem Antikörper 7D4 können sogenannte "oversulphated Epitopes" des Chondroitin-6-Sulfats nachgewiesen werden. Hier zeigt sich ebenfalls ein sehr unterschiedliches Markierungsmuster. In Bandmitte und Enthesisregion sind alle Befunde von nicht markiert bis markiert vertreten. Vergleicht man dies mit Tabelle 12, so stellt sich eine gewisse Übereinstimmung in der Ausprägung der Markierung der einzelnen Bänder dar. Eine Untersuchung der jüngeren Proben fand nicht statt.

		Proc. coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Lat.	n.a.	n.a.	(+)	+	+	-
	Mitte	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
	Med.	-	+	(+)	(+)	+	-
68/02	Lat.	-	-	(+)	+	(+)	-

	Mitte	-	-	-	(+)	(+)	-
	Med.	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
136/02	Lat.	-	-	(+)	+	+	n.a.
	Mitte	-	(+)	-	-	(+)	-
	Med.	-	-	-	-	(+)	-
5/03	Lat.	-	-	-	(+)	(+)	-
	Mitte	-	-	-	-	-	-
	Med.	-	-	-	-	(+)	-
49/03	Lat.	-	-	-	(+)	(+)	-
	Mitte	-	-	-	-	-	-
	Med.	-	(+)	(+)	(+)	-	-
57/03	Lat.	n.a.	n.a.	(+)	(+)	(+)	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
61/03	Lat.	n.a.	+	(+)	+	+	-
	Mitte	-	+	(+)	+	(+)	-
	Med.	n.a.	+	(+)	(+)	(+)	-
58/03	Lat.	n.a.	(+)	(+)	+	-	-
	Mitte	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	-
	Med.	-	-	-	+	+	-
62/03	Lat.	-	+	+	(+)	+	n.a.
	Mitte	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
	Med.	-	+	+	+	+	-

Tabelle 13 Chondroitin-6-Sulfat, natives Epitop „oversulphated“ Antikörper 7D4: n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)=fleckig markiert, -= kein Nachweis. Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial.

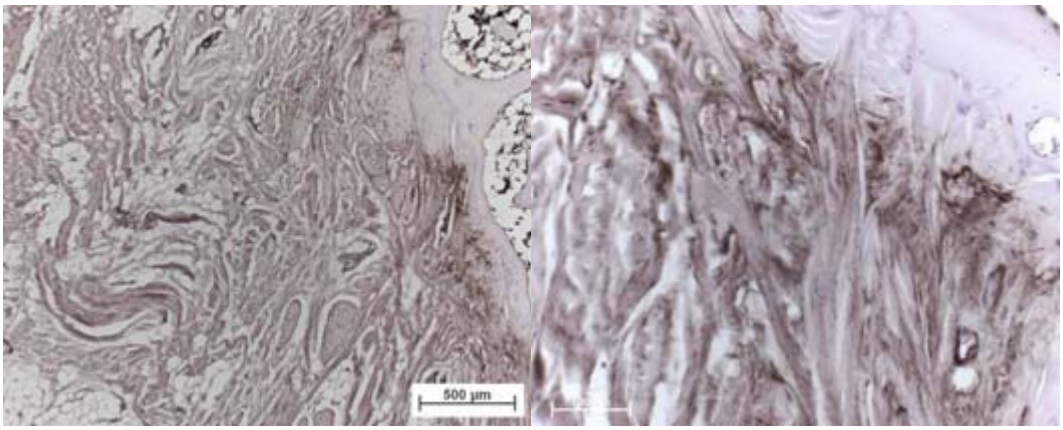


Abb. 24 links (64.am): Übersicht über die Markierung mit 7D4. In einzelnen Fällen stellt sich die Enthesis bei älteren Spendern deutlich positiv dar.

Abb. 25 rechts (64.am): Markierte Faserbündel im Bereich einer Enthesis bei höherer Vergrößerung.

3.3.6 Keratansulfat (5D4)

Die Untersuchung auf Keratansulfat mit dem Antikörper 5D4 ergibt zum größten Teil einen durchgehend positiven Nachweis in Band, Anheftungszone und umgebendem Bindegewebe. In wenigen Fällen zeigt sich eine fleckige Markierung in diesen Abschnitten. Ein Unterschied zwischen älteren und jungen Präparaten ist nicht erkennbar.

		Proc. coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Lat.	n.a.	+	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	(+)	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
68/02	Lat.	n.a.	n.a.	-	+	+	-
	Mitte	-	+	+	(+)	(+)	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
136/02	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-

	Med.	-	+	+	+	+	-
5/03	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	-	(+)	(+)	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
49/03	Lat.	-	+	(+)	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
57/03	Lat.	n.a.	n.a.	+	+	n.a.	n.a.
	Mitte	-	(+)	(+)	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
61/03	Lat.	n.a.	+	+	+	(+)	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	n.a.	+	+	+	+	-
58/03	Lat.	n.a.	+	+	+	+	-
	Mitte	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
62 GS /03	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	(+)	-
GS 1246/04		-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
GS 1186/04		-	+	+	(+)	(+)	-
GS 1204/04		-	+	+	+	+	-
GS 1216/04		-	+	+	+	+	-
GS 1176/04		-	(+)	(+)	+	+	-
GS 1245/04		-	+	+	+	+	-

Tabelle 14 Keratansulfat 5D4:

n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)=fleckig markiert, -= kein Nachweis.

Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial.

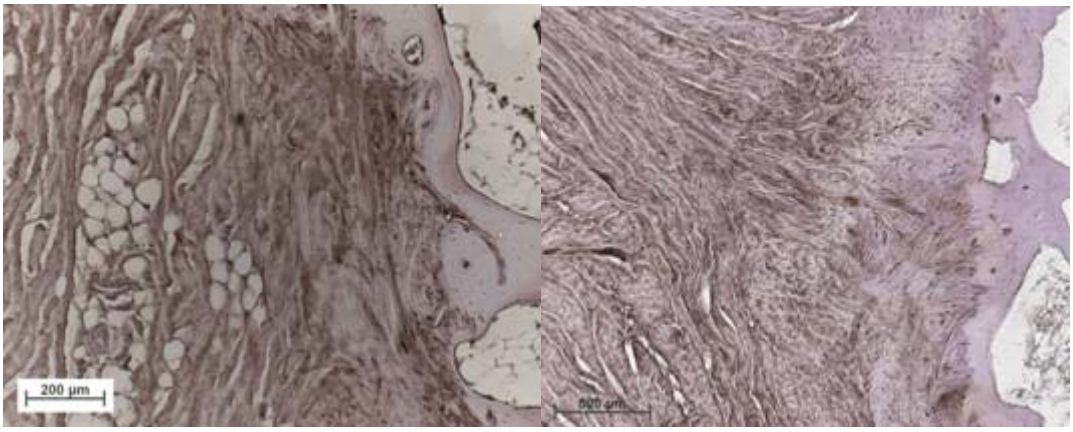


Abb. 26 links (64.am): positive Markierung von Keratansulfat in Band und Enthesis.

Abb. 27 rechts (1245.c): Nachweis von Keratansulfat in Band und Enthesis.

3.4 Proteoglykane

3.4.1 Versican (12C5)

Die Verteilung von Versican, nachgewiesen durch den Antikörper 12C5, stellt sich in beinahe allen Präparaten gleich dar: Anheftungszone und Bandmitte sind positiv markiert. Es fällt eine Aussparung der Markierung im Bereich des Faserknorpels der Enthesisregion in den meisten älteren Ligamenta auf. Auch die jüngeren Präparate weisen bis auf eine Ausnahme dieses „Gap-Phänomen“ auf, das allerdings etwas schmäler in der Dimension erscheint. Im Knochen sind teilweise die Osteozyten positiv markiert.

		Proc. coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Lat.	n.a.	+	+	+	+[1]	-
	Mitte	-	+[1]	+	+	+[1]	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
68/02	Lat.	n.a.	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-

	Med.	-	+[1]	+	+	+	-
136/02	Lat.	n.a.	+	+	+	n.a.	n.a.
	Mitte	-	+	(+)	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
5/03	Lat.	-	+[1]	+	+	+[1]	-
	Mitte	-	+	(+)	+	+[1]	-
	Med.	-	+[1]	+	+	+	-
49/03	Lat.	-	+	+	+	n.a.	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+[1]	-
	Med.	-	+[1]	+	+	+[1]	-
57/03	Lat.	n.a.	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+[1]	-
	Med.	-	+	+	+	+[1]	-
61/03	Lat.	-	+[1]	+	(+)	+[1]	-
	Mitte	-	+	+	+	+[1]	-
	Med.	n.a.	n.a.	+	+	+[1]	-
58/03	Lat.	n.a.	+	+	+	+[1]	-
	Mitte	n.a.	n.a.	n.a.	+	+[1]	-
	Med.	-	+[1]	+	+	+[1]	-
62/03	Lat.	-	+[1]	+	+	+[1]	-
	Mitte	-	+[1]	+	+	+[1]	-
	Med.	-	+	+	+	+[1]	-
GS 1246/04		-	+[1]	+	+	+[1]	-
GS 1186/04		-	+[1]	+	+	+[1]	-
GS 1204/04		-	+	+	+	+[1]	-
GS 1216/04		-	+[1]	+	+	+[1]	-
GS 1176/04		-	+[1]	+	+	+[1]	-
GS 1245/04		-	+[1]	+	+	+[1]	-

Tabelle 15 Versican 12C5:
n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)=fleckig markiert, -= kein Nachweis,
[1] Gap-Phänomen. Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial.

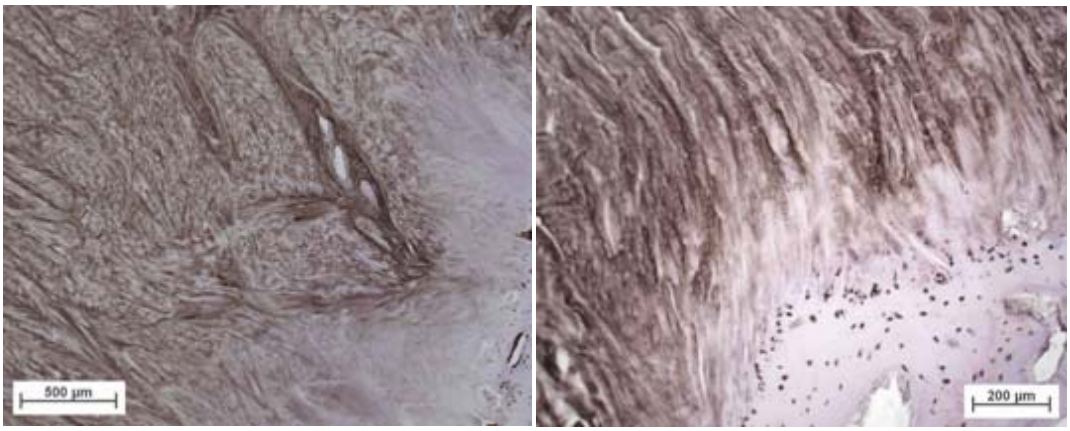


Abb. 28 links (1216.c): Nachweis von Versican in der Enthesisregion.

Abb. 29 rechts (1245.c): Versican Markierung mit Gap-Phänomen (*), man beachte die positiv markierten Osteozyten .

3.4.2 Tenascin (T2H5)

Tenascin lässt sich in allen Bandbereichen nachweisen, wobei die Intensität der Färbung zwischen fleckig und komplett markiert schwankt. Vor allem die Faserknorpelzellen weisen perizellulär eine positive Markierung auf. Ähnlich wie bei Versican findet sich eine ungefärbte Zone im Bereich der Enthesis. Im Knochen sind Osteozyten positiv gefärbt.

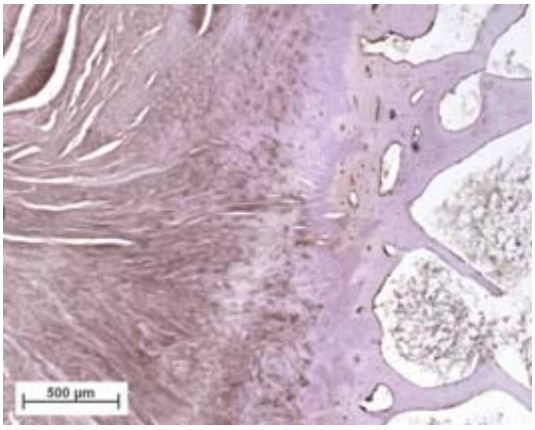
		Proc. coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Lat.	n.a.	+	(+)	(+)	+[1]	-
	Mitte	-	+[1]	(+)	(+)	+[1]	-
	Med.	-	+	(+)	(+)	+	-
68/02	Lat.	n.a.	+	+	(+)	(+)	n.a.
	Mitte	-	(+)[1]	(+)	(+)	+[1]	-
	Med.	-	(+)[1]	(+)	(+)	(+)	-
136/02	Lat.	n.a.	n.a.	+	(+)	+	n.a.

	Mitte	-	+	(+)	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
5/03	Lat.	-	+[1]	+	(+)	(+)	-
	Mitte	-	+[1]	+	(+)	(+)	-
	Med.	-	+[1]	+	(+)	+	-
49/03	Lat.	-	+[1]	(+)	+	n.a.	n.a.
	Mitte	-	(+)	(+)	+	+[1]	-
	Med.	-	+[1]	+	+	+[1]	-
57/03	Lat.	-	+[1]	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	(+)	-
	Med.	-	+	+	+	+[1]	-
61/03	Lat.	-	(+)[1]	+	+	(+)[1]	-
	Mitte	-	+[1]	+	(+)	+[1]	-
	Med.	n.a.	n.a.	+	(+)	+[1]	-
58/03	Lat.	-	+	+	+	(+)[1]	-
	Mitte	n.a.	n.a.	n.a.	+	(+)[1]	-
	Med.	-	+	+	+	(+)[1]	-
62/03	Lat.	-	+[1]	+	+	n.a.	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	(+)[1]	-
	Med.	-	+	+	(+)	(+)[1]	-
1246/04		-	+[1]	+	(+)	(+)[1]	-
1186/04		-	+	+	+	+	-
1204/04		-	+	+	(+)	+	-
1216/04		-	+[1]	+	+	+[1]	-
1176/04		-	+[1]	+	+	+[1]	-
1245/04		-	+[1]	+	+	+[1]	-

Tabelle 16 Tenascin T2H5:

n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)= fleckig markiert, -= kein Nachweis,

[1] Gap-Phänomen. Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial



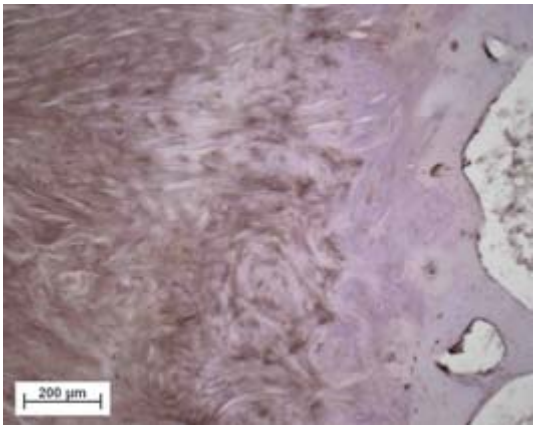


Abb. 30 links (1245.c): Tenascin Nachweis in der Enthesisregion .

Abb. 31 rechts (1245.c): perizellulärer Nachweis in der Enthesis (→), Gap-Phänomen (*).

3.4.3 Aggrecan (1C6)

Für Aggrecan ergibt sich im Bereich der Enthesis eine nahezu einheitlich positive sehr kräftige Markierung. Alleine am Ansatz am Proc. coracoideus zeigt sich stellenweise ein fleckiger Nachweis. In der Bandmitte reicht die Ausprägung von kein bis positiver Nachweis, wobei eine regionale Zuordnung nicht möglich ist. Im Vergleich zu den jungen Bändern ist die Ausdehnung der Aggrecan Markierung bei den älteren Bändern, insbesondere in der Bandmitte, größer.

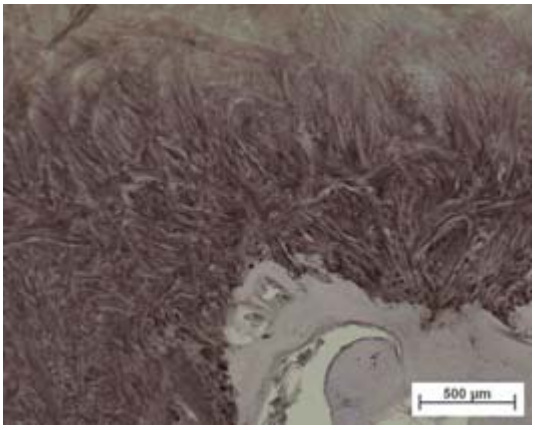
		Proc. coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Lat.	n.a.	(+)	(+)	(+)	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	(+)	+	-
68/02	Lat.	-	+	-	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	-	(+)	+	-
136/02	Lat.	n.a.	n.a.	(+)	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	-	-	+	-

	Med.	-	+	-	(+)	+	-
5/03	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	-	(+)	-	-	+	-
	Med.	-	+	+	-	+	-
49/03	Lat.	-	(+)	-	(+)	+	n.a.
	Mitte	-	(+)	-	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
57/03	Lat.	-	+	+	(+)	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	(+)	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
61/03	Lat.	n.a.	+	+	+	+	-
	Mitte	-	+	(+)	(+)	+	-
	Med.	n.a.	n.a.	(+)	(+)	+	-
58/03	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	-
	Med.	-	+	(+)	+	+	-
62/03	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
GS 1246/04		-	+	-	-	+	-
GS 1186/04		-	+	-	-	+	-
GS 1204/04		-	+	-	-	+	-
GS 1216/04		-	+	(+)	(+)	+	-
GS 1176/04		-	+	(+)	+	+	-
GS 1245/04		-	+	(+)	(+)	+	-

Tabelle 17 Aggrecan 1C6:

n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)= fleckig markiert, -= kein Nachweis.

Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial.



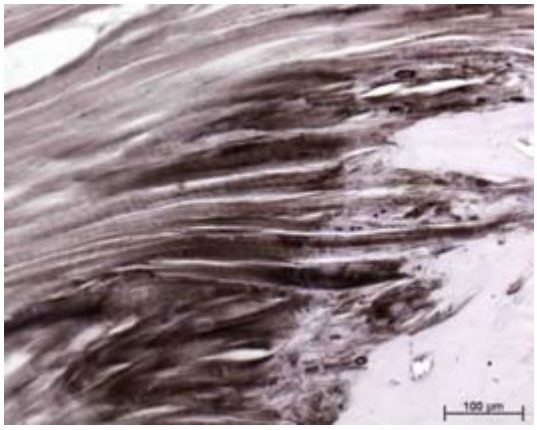


Abb. 32 links (1216.c): kräftige Markierung der Enthesis für Aggrecan.

Abb. 33 rechts (68.ami): Enthesis deutlich positiv markiert, man beachte die rundlichen Faserknorpelzellen.

3.4.4 Link Protein (8A4)

Link Protein ist in allen Enthesisregionen der älteren Proben vor allem perizellulär in größtenteils starker Ausprägung nachweisbar. In Bandmitte kommt überwiegend eine nur stellenweise positive Markierung vor. Im Gegensatz dazu tritt bei den jüngeren Präparaten an der Anheftungszone eine schwächere und auch in der Dimension kleinere Markierung und in Bandmitte überwiegend keine Markierung auf. Der Knochenteil reagiert in sämtlichen Präparaten negativ.

		Proc. coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Lat.	n.a.	+	(+)	(+)	(+)	-
	Mitte	-	+	(+)	(+)	+	-
	Med.	-	+	(+)	(+)	+	-
68/02	Lat.	-	+	(+)	(+)	+	-
	Mitte	-	+	(+)	-	+	-
	Med.	-	+	-	-	+	-
136/02	Lat.	n.a.	n.a.	(+)	(+)	+	n.a.
	Mitte	-	(+)	(+)	(+)	+	-
	Med.	-	+	(+)	-	+	-
5/03	Lat.	-	+	+	(+)	+	-
	Mitte	-	+	-	-	+	-
	Med.	-	(+)	(+)	-	+	-

49/03	Lat.	-	+	(+)	(+)	n.a.	n.a.
	Mitte	-	+	(+)	(+)	+	-
	Med.	-	+	(+)	(+)	(+)	-
57/03	Lat.	-	+	(+)	(+)	n.a.	n.a.
	Mitte	-	+	(+)	(+)	+	-
	Med.	-	(+)	(+)	+	+	-
61/03	Lat.	-	+	(+)	(+)	+	-
	Mitte	-	+	(+)	(+)	+	-
	Med.	n.a.	n.a.	(+)	(+)	+	-
58/03	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	-
	Med.	-	+	-	+	+	-
62/03	Lat.	-	+	+	(+)	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	-	(+)	-
	Med.	-	+	(+)	+	+	-
GS 1246/04		-	(+)	-	-	+	-
GS 1186/04		-	(+)	-	-	+	-
GS 1204/04		-	-	-	-	(+)	-
GS 1216/04		-	+	-	(+)	(+)	-
GS 1176/04		-	+	-	-	+	-
GS 1245/04		-	+	-	-	(+)	-

Tabelle 18 Link Protein 8A4:
n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)= fleckig markiert, -= kein Nachweis.
Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial.

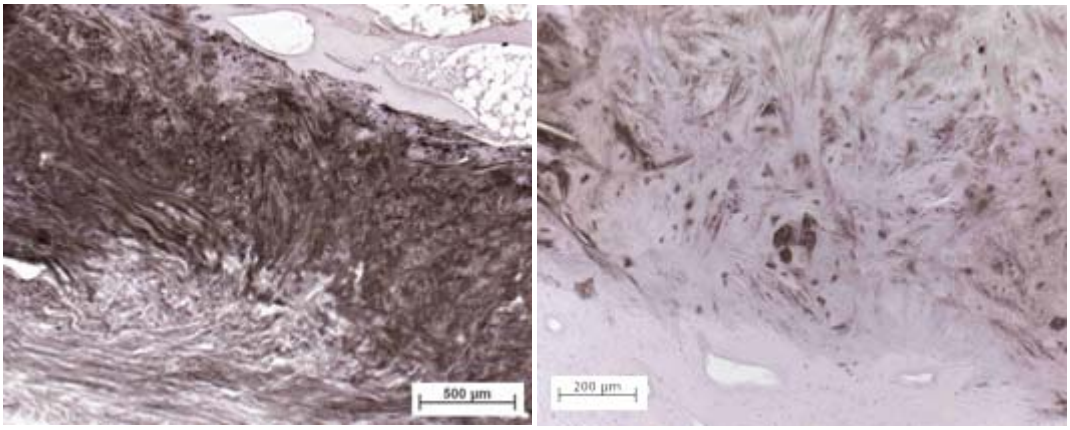


Abb. 34 links (64.am): kräftige Färbung für Link Protein im Enthesisbereich.

Abb. 35 rechts (1246.a): schwächere Markierung, v.a. perizellulär im Enthesisbereich eines Präparates, welches von einem jüngeren Spender stammt (→).

3.5 Matrixproteine

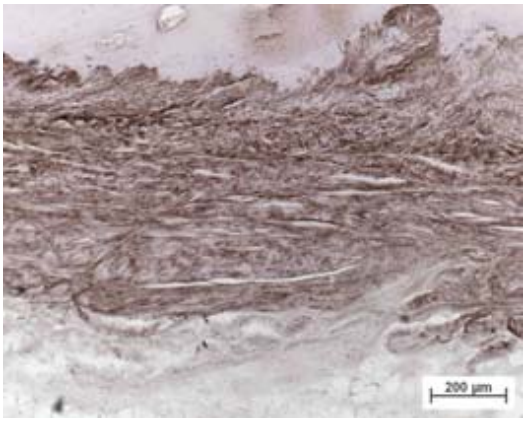
3.5.1 Cartilage oligomeric matrix protein (COMP)

Das Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) kommt in allen Präparaten in Enthesis und Bandmitte vor. Der Knochen ist nicht markiert. Ein Unterschied zwischen älteren und jungen Proben besteht nicht.

		Proc. coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Lat.	n.a.	+	+	+	+	-
	Mitte	-	+	(+)	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
68/02	Lat.	n.a.	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
136/02	Lat.	n.a.	+	+	+	n.a.	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
5/03	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
49/03	Lat.	-	+	+	+	n.a.	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-

57/03	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
61/03	Lat.	n.a.	n.a.	+	+	+	-
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	n.a.	+	+	+	+	-
58/03	Lat.	-	+	+	+	+	-
	Mitte	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
62/03	Lat.	-	+	+	+	+	n.a.
	Mitte	-	+	+	+	+	-
	Med.	-	+	+	+	+	-
GS 1246/04		-	+	+	+	+	-
GS 1186/04		-	+	+	+	+	-
GS 1204/04		-	+	+	+	+	-
GS 1216/04		-	+	+	+	+	-
GS 1176/04		-	+	+	+	+	-
GS 1245/04		-	+	+	+	+	-

Tabelle 19 *Markierung für COMP:*
n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)= fleckig markiert, -= kein Nachweis.
Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial.



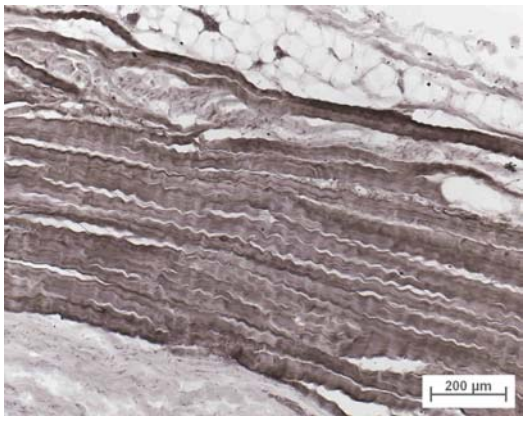


Abb. 36 links (1204.a): COMP Nachweis in der Enthesisregion.

Abb. 37 rechts (1186.c): kräftige Markierung für COMP in Bandmitte, das umgebende Bindegewebe ist nicht markiert.

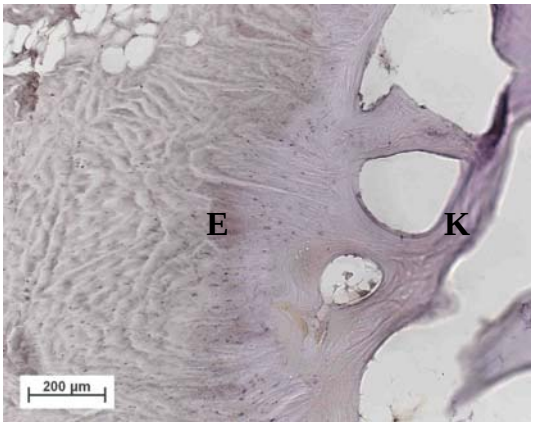
3.5.2 Matrilin 1 (CMP)

Matrilin 1 (Synonym: cartilage matrix protein - CMP) ist ein Matrixprotein, welches sich in praktisch allen Bändern nachweisen lässt. Die einzige Ausnahme stellt die Enthesisregion eines älteren Bandes, bei dem die Markierung negativ war, dar. Bei den übrigen Bändern waren vor allem die Zellen positiv markiert. In der extrazellulären Matrix variiert die Intensität der Färbung von schwach bis stark.

		Proc. coracoideus			Acromion		
ID Nr.		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
64/02	Mitte	-	-	+	+	-	-
68/02	Mitte	-	+	+	+	(+)	-
136/02	Mitte	-	(+)	(+)	+	+	-
49/03	Mitte	-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
61/03	Mitte	-	(+)	+	(+)	(+)	-
58/03	Mitte	-	(+)	+	+	-	-
62/03	Mitte	-	(+)	+	+	(+)	-
GS 1246/04		-	+	+	(+)	(+)	-

GS 1186/04		-	+	+	+	+	-
GS 1204/04		-	+	+	+	+	-
GS 1216/04		-	(+)	(+)	(+)	(+)	-
GS 1176/04		-	+	+	(+)	(+)	-
GS 1245/04		-	(+)	(+)	(+)	(+)	-

Tabelle 20 Matrilin 1 (CMP):
n.a.= nicht vorhanden, += positiver Nachweis, (+)= fleckig markiet, -= kein Nachweis.
Abkürzungen: lat.= lateral, med.= medial.



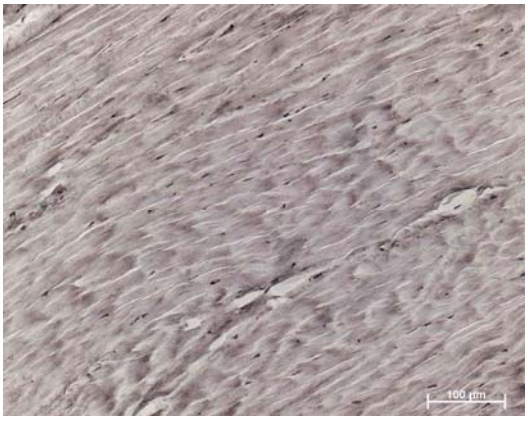


Abb. 38 links (49.cmi): Matrilin Markierung im Bereich der Enthesis.

Abb. 39 rechts (64.cmi): fleckige Markierung in Bandmitte.

3.6 Zusätzliche morphologische Befunde

Bei der Betrachtung der vielen Proben fielen zusätzlich folgende morphologische Befunde auf. In den Bändern sowohl der älteren als auch der jüngeren Probanden stellten sich vor allem an der Unterseite des Lig. coracoacromiale sowie am unteren und obere Rand der Anheftungszone Streifen von Fettgewebe dar, welche zum Teil noch von faserigem Gewebe umgeben waren. In diesen Bereichen ließen sich durch einen ausschließlich Neurofilament markierenden Antikörper (RT 97 monoklonaler Antikörper der DSHB, Iowa) nervale Strukturen darstellen.

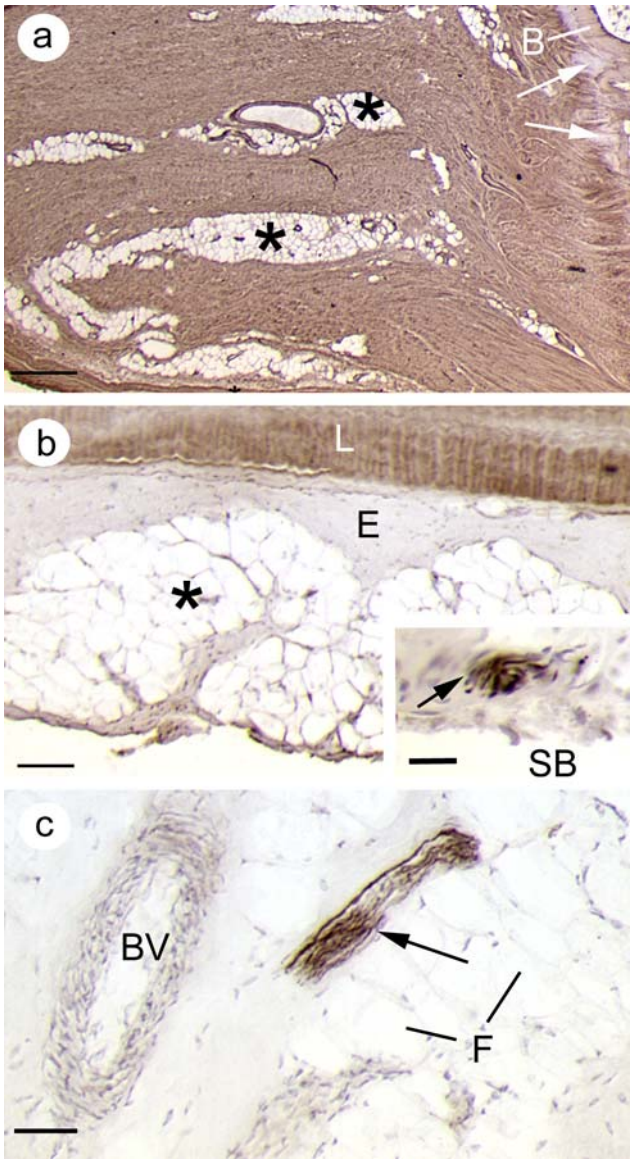


*Abb. 40 Ansammlungen von Fettzellen innerhalb (a, markiert mit *) und unterhalb (b, markiert mit *) des faserreichen Bandgewebes. Man beachte die markierten nervalen Strukturen (b Inset und c Pfeil). BV= Blutgefäß, F = Fettzelle, SB = Bursa subacromialis, L = Ligament, E = Epitenon.*

3.7 Zusammenfassung der Ergebnisse

In Tabelle 21 sind die Ergebnisse aller Einzelbetrachtungen nochmals in summarischer Form zusammengefasst:

Färbung		Proc. coracoideus			Acromion		
		Knochen	Enthesis	Band	Band	Enthesis	Knochen
Col 1	a.lat.	8/8	8/8 4*	9/9	9/9	8/8 4*	7/7

	a.Mitte	7/7	8/8 3*	8/8	9/9	9/9 7*	9/9
	a.med.	9/9	9/9 1*	9/9	9/9	9/9 6*	9/9
	neue	6/6	6/6 4*	6/6	6/6	6/6 3*	6/6
C2C1	a.lat.	0/7	8/8	6/9	8/9	7/7	0/5
	a.Mitte	0/7	7/7	3/8	3/9	9/9	0/9
	a.med.	0/9	8/8	4/9	3/9	9/9	0/9
	neue	0/6	6/6	2/6	3/6	6/6	0/6
4H12	a.lat.	0/7	8/8	9/9	9/9	7/7	0/5
	a.Mitte	0/8	8/8	8/8	9/9	9/9	0/9
	a.med.	0/8	9/9	9/9	9/9	9/9	0/9
	neue	0/6	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6
3C9	a.lat.	0/9	3/9	4/9	5/9	4/9	0/9
	a.Mitte	0/8	3/8	6/8	7/9	4/9	0/9
	a.med.	0/9	4/9	8/9	9/9	5/9	0/9
	neue	0/6	1/6	5/6	5/6	2/6	0/6
5C6	a.lat.	0/3	8/8	9/9	9/9	8/8	0/7
	a.Mitte	0/7	8/8	8/8	9/9	9/9	0/9
	a.med.	0/9	9/9	9/9	9/9	9/9	0/9
	neue	0/6	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6
2B6+ABC	a.lat.	0/7	7/7	9/9	9/9	9/9	0/5
	a.Mitte	0/7	7/7	8/8	9/9	9/9	0/9
	a.med.	0/8	9/9	9/9	9/9	9/9	0/9
	neue	0/6	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6
2B6+ACII	a.lat.	0/7	7/7	9/9	9/9	9/9	0/5
	a.Mitte	0/7	7/7	8/8	9/9	9/9	0/9
	a.med.	0/8	8/8	9/9	9/9	9/9	0/9
	neue	0/6	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6
3B3+ABC	a.lat.	0/6	7/7	9/9	9/9	8/8	0/6

	a.Mitte	0/7	7/7	8/8	9/9	9/9	0/9
	a.med.	0/8	9/9	9/9	9/9	9/9	0/9
	neue	0/6	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6
3B3+PBS	a.lat.	0/6	5/9	8/9	7/9	5/8	0/7
	a.Mitte	0/8	5/8	6/8	7/9	8/9	0/9
	a.med.	0/8	6/9	7/9	9/9	8/9	0/9
7D4	a.lat.	0/5	3/7	7/9	9/9	8/9	0/7
	a.Mitte	0/8	5/8	4/8	6/9	7/9	0/9
	a.med.	0/9	6/9	6/9	7/9	8/9	0/9
5D4	a.lat.	0/4	7/7	8/9	9/9	8/8	0/5
	a.Mitte	0/8	8/8	8/8	9/9	9/9	0/9
	a.med.	0/9	9/9	9/9	9/9	9/9	0/9
	neue	0/6	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6
12C5	a.lat.	0/4	9/9 3*	9/9	9/9	7/7 5*	0/5
	a.Mitte	0/8	8/8 2*	8/8	9/9	9/9 7*	0/9
	a.med.	0/8	8/8 4*	9/9	9/9	9/9 5*	0/9
	neue	0/6	6/6 5*	6/6	6/6	6/6 6*	0/6
T2H5	a.lat.	0/6	8/8 5*	9/9	9/9	7/7 3*	0/4
	a.Mitte	0/8	8/8 4*	8/8	9/9	9/9 6*	0/9
	a.med.	0/8	8/8 3*	9/9	9/9	9/9 5*	0/9
	neue	0/6	6/6 4*	6/6	6/6	6/6 3*	0/6
1C6	a.lat.	0/6	8/8	7/9	9/9	9/9	0/5
	a.Mitte	0/8	8/8	5/8	7/9	9/9	0/9
	a.med.	0/8	8/8	7/9	8/9	9/9	0/9
	neue	0/6	6/6	3/6	3/6	6/6	0/6
8A4	a.lat.	0/7	8/8	9/9	9/9	7/7	0/5
	a.Mitte	0/8	8/8	7/8	6/9	9/9	0/9
	a.med.	0/8	8/8	7/9	6/9	9/9	0/9

	neue	0/6	5/6	0/6	1/6	6/6	0/6
COMP	a.lat.	0/5	8/8	9/9	9/9	7/7	0/3
	a.Mitte	0/8	8/8	8/8	9/9	9/9	0/9
	a.med.	0/8	9/9	9/9	9/9	9/9	0/9
	neue	0/6	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6
CMP	alte	0/7	6/7	7/7	7/7	5/7	0/7
	neue	0/6	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6

Tabelle 21 *Zusammenfassung der Ergebnisse: Zahl der positiven Markierungen (incl. der fleckigen Nachweise) / Zahl aller auswertbaren Präparaten. Die Zahl der Präparate mit Gap-Phänomen ist im Bedarfsfall ebenfalls angegeben*, Abkürzungen: a.= Bänder älterer Spender, lat.=lateral, med.=medial*

4 DISKUSSION

4.1 Wertigkeit der Methode

Bei den zuerst untersuchten Bändern aus der Anatomischen Anstalt liegt der Altersdurchschnitt bei 74,7 Jahren. Obwohl nur makroskopisch unauffällige Präparate untersucht wurden, war es bei diesen Präparaten schwierig, eine degenerative Veränderung auszuschließen. Daher entschlossen wir uns in der Folge, sechs weitere Proben mit einem durchschnittlichen Alter von 27,2 Jahren zu untersuchen. Bei gleichem makroskopischen Auswahlkriterium kann unterstellt werden, dass diese Gruppe weit weniger anfällig für das Auftreten von degenerativen Veränderungen ist, als die eingangs beschriebene ältere Spendergruppe. Zugleich lässt sich so sehr einfach das Auftreten eines möglichen Altersganges, d.h. das Auftreten altersabhängiger Befunde, abschätzen.

4.1.1 Entnahme und Methanolfixierung

Um eine immunhistologische Untersuchung optimal durchführen zu können, müssen bestimmte Voraussetzungen erfüllt werden. Einmal sollten die Proben nicht später als 72 h post mortem entnommen werden. Dieser frühe Entnahmezeitpunkt soll einen fortgeschrittenen Autolyseprozess, der durch Gewebeenzyme hervorgerufen wird, verhindern und so die bestmögliche Erhaltung der Feinstruktur gewährleisten. Zum anderen darf nicht auf gewöhnliche Weise mit Formalin fixiert werden, da eine solche Fixierung die hier beabsichtigte immunhistologische Markierung fast unmöglich macht. Grund für diese Problematik ist die Ausbildung von Methylenbrücken, durch welche es zur Vernetzung der Aminosäuren der zu untersuchenden Proteine kommt (French et al. 1945, Boskey et al. 1982). Im Gegensatz dazu bietet die Methanolaufbewahrung einige Vorteile. Das Gewebe wird genügend fixiert, so dass Autolyseprozesse ausreichend aufgehalten werden. Durch gleichzeitige Reduktion / Unterbindung der Aktivität der endogenen Peroxidase reduziert die Methanolfixation vor allem bei der hier gewählten Nachweisreaktion das Auftreten unspezifischer Hintergrundmarkierungen. Außerdem fixiert Methanol die Proteine durch Fällung (Denaturierung) in ihrer Position im Präparat ohne durch chemische Interferenz die Immunhistologie zu stören.

4.1.2 Kryomikrotomie

Um die Präparate mitsamt der knöchernen Ansätze schneiden zu können, ist es unabdingbar, den Knochen vorher zu entkalken. Dafür wurden die Proben über Wochen bis Monate in immer wieder frisch angesetzter 5%-iger EDTA Lösung entkalkt. Selbst nach vollständiger Entkalkung gelang es jedoch nicht immer, einen zufrieden stellenden Schnitt durch die knöchernen Teile der Enthesisregion zu erreichen, da es hier durch die unterschiedliche Beschaffenheit des Gewebes häufig zu Zerreißungen der Schnitte kam. Ein weiteres Problem stellte die Optimierung der Schnittdicke dar. Bei zu geringer Dicke zerrissen die Proben und zu dicke Schnitte ließen eine optimale immunhistologische Auswertung nicht mehr zu. Eine Schnittdicke von 14µm erwies sich im Hinblick auf beide Rahmenbedingungen am günstigsten. Die anatomische Ausdehnung des Bandes führte zu relativ großen Präparateblöcken. Diese ließen sich nicht mehr zufrieden stellend schneiden. Die beste Lösung war hier, das Band in der Mitte zu teilen und die beiden Ansätze getrennt voneinander zu untersuchen.

4.1.3 Immunhistologie

Die immunhistologische Färbung ist eine sehr spezifische und oft angewandte Nachweismethode, um Makromoleküle spezifisch zu markieren und deren Verteilung im Gewebe zu untersuchen. Grundlage des immunhistochemischen Nachweises ist die besondere Affinität zwischen Antikörper und Antigen, die eine Bindung und deren Fortbestand erst ermöglichen. Diese Antigen-Antikörper-Bindung beruht auf einem komplexen, dreidimensionalen Schlüssel-Schloss-Prinzip, einer Mischung aus Anziehungskräften auf Ionenbasis, Wasserstoffbrückenbindungen und hydrophoben Wechselwirkungen (Kiernan 1999). Um die hohe Spezifität der Nachweismethode zu gewährleisten, ist eine genaue Charakterisierung des Antikörpers unerlässlich, da mögliche Kreuzreaktivitäten mit anderen Molekülen die Spezifität erheblich beeinträchtigen können. In dieser Arbeit wurde besonderes Augenmerk auf solche Charakterisierungen gelegt. Viele der verwendeten Antikörper stammen von der angesehenen und zuverlässigen, biochemischen Abteilung der School of Biosciences der University of Wales (Die Antikörper wurden dankenswerter Weise von Prof. Dr. B. Caterson zu Verfügung gestellt). Monoklonale Antikörper verfügen in der Regel über eine höhere Spezifität als polyklonale Antikörper, da sie nur eine bestimmte antigene Determinante erkennen. Hier wurden bis auf den Antikörper gegen Matrilin 1, welcher ein polyklonaler Antikörper aus dem Kaninchen

ist, nur monoklonale Antikörper aus der Maus oder Ratte (COMP) benutzt.

Die Immunhistochemie ist eine qualitative Nachweismethode: entweder das Makromolekül ist vorhanden oder nicht. Somit kann aus unterschiedlichen Farbintensitäten nicht auf die Quantität des antigenen Moleküls geschlossen werden. Um aber dennoch der unterschiedlichen Farbintensität innerhalb eines Schnittes gerecht zu werden, wurden die Markierungen in den verschiedenen Regionen sehr genau bewertet, unterschiedliche Markierungsmuster (perizellulär, diffus) genau beschrieben und die regionale Verteilung des Farbniederschlags bestimmt (stellenweise fleckig, komplett).

Zur Detektierung der gebundenen Primärantikörper wurde die ABC-Peroxidase-Methode gewählt, die eine lichtmikroskopisch erkennbare Markierung erzeugt. Diese Methode soll bei Geweben des Bewegungsapparates die besten Ergebnisse liefern (Kiernan 1999) und wird weltweit häufig eingesetzt.

4.2 Interpretation der Ergebnisse

Bei allen untersuchten Bändern lässt sich im Bereich der Anheftungszone am Knochen eine stark metachromatisch reagierende Region und sogar in manchen Bändern eine schwächer reagierende Zone nachweisen. Der Nachweis von Metachromasie deutet auf eine vermehrt sauer reagierende extrazelluläre Matrix vor allem im Bereich der Enthesis hin. Im weiteren Verlauf bestätigt sich dieses Ergebnis z.B. durch den Nachweis von Glykosaminoglykanen bzw. Proteoglykanen in dieser Zone. Ähnliches wurde bereits in anderen Sehnen und Bändern im Bereich einer Enthesis dokumentiert (Benjamin et al. 1995, Carvalho 1995, Lewis 1998).

4.2.1 Kollagene

Die Kollagene bilden eine große Familie extrazellulärer Matrixproteine, die hauptsächlich eine strukturgebende Funktion in den verschiedensten Geweben übernehmen. Kollagene sind aus drei Polypeptidketten aufgebaut, die man als α-Ketten bezeichnet und die in Form einer Tripelhelix umeinander gewunden sind. Jede α-Kette enthält repetitive Gly-x-y- Sequenzen. Die Kollagene werden in mehrere Untergruppen unterteilt (Kreis & Vale 1999).

Bei unseren Untersuchungen finden sich in allen Bändern ein durchgehend kräftiger Nachweis für die Kollagene I, III und VI. Kollagen I, das 90% des gesamten Kollagens im Körper darstellt, kommt charakteristischerweise in Sehnen, Bändern und Knochen vor und gewährleistet dort Widerstandsfähigkeit gegen hohe Zugkräfte (Kielty & Shuttleworth, 1993). Kollagen III, dessen Fasern in der Regel dünner sind als die des Kollagen I (Silver, 1983) kommen häufiger in Geweben mit höherer Elastizitätsanforderung, wie Aorta oder Haut vor. In diesem Zusammenhang könnte es bedeutsam sein, dass Bänder über eine zwar limitierte aber dennoch nachweisbare Dehnungsfähigkeit verfügen und sich dadurch der funktionellen Situation in gewissem Maße anpassen (Benjamin u. Ralphs, 1997; Dvorak et al. 1988; Saldinger et al. 1990). Kollagen VI soll die Bindung von Zellen an das kollagene Netzwerk der extrazellulären Matrix begünstigen (Burgeson & Nimni 1992) und darüber hinaus durch Bildung eines stark hydratisierten Saums den Flüssigkeitstransport zwischen den Fibrillen erleichtern (Bray et al. 1993). Insofern ist es keine Überraschung, dass Kollagen VI durchgehend im stark parallelfaserig gegliederten Band auftritt.

Das fibrilläre Kollagen V, das ebenfalls in Geweben mesenchymalen Ursprungs wie Sehnen vorkommt, konnte in dieser Untersuchung stellenweise im Band und etwas weniger im Bereich der Enthesis nachgewiesen werden. Das Vorkommen von Kollagen V soll nach Literaturangaben einen limitierenden Faktor für den Durchmesser von Kollagenfasern darstellen (Kreis & Vale 1999).

Kollagen II wurde in Ligg. coracoacromialia von älteren Spendern an allen Anheftungszonen und auch im Verlauf der Bänder, besonders am lateralen Rand der Präparate nachgewiesen. In den Bändern der jüngeren Spender wurde Kollagen II ebenfalls an allen Enthesisregionen nachgewiesen. Im Band war die Markierung meist etwas schwächer ausgeprägt. Kollagen II ist (häufig in Verbindung mit Aggrecan und Link Protein) typischerweise in hyalinem Knorpelgewebe anzutreffen. Das Vorkommen dieses knorpeltypischen Kollagens ist aber auch an Stellen von Sehnen, die neben Zug- vor allem auch Druckkräften ausgesetzt sind, beschrieben worden (Benjamin & Ralphs 1995).

4.2.2 Glykosaminoglykane

Die bereits mit Toluidinblau nachgewiesenen metachromatisch reagierenden Zonen decken sich mit Bereichen in denen besonders ausgeprägte Vorkommen von sauer reagierenden Glykosaminoglykanen und Proteoglykanen beobachtet werden. Die jeweilige

Zusammensetzung der Glykosaminoglykane in den verschiedenen Geweben variieren jedoch je nach mechanischer und chemischer Beanspruchung (Gillard et al. 1977b, Gelbermann et al. 1988, Flint et al. 1994, Watanabe et al. 1994). Milz et al. (2005) postulieren, dass Dermatan- und Keratansulfat sich bereits bei geringer lokaler Druckbeanspruchung sowie bei kombiniert auftretender Zugbeanspruchung ausbilden, während Chondroitin-4-Sulfat sich erst bei einer etwas erhöhten, intermittierend einwirkenden Druckbeanspruchung folgt. Erst bei nochmals deutlich gesteigerter Druckbeanspruchung findet sich schließlich Chondroitin-6-Sulfat in flächiger Markierung im Gewebe (Milz et al. 2005).

Dermatansulfat und Keratansulfat lassen sich im LAC einheitlich in allen Bandabschnitten sowohl der jüngeren als auch der älteren Spender nachweisen, was typisch für faserreiches Gewebe ist (Gelbermann et al. 1988). Das Auftreten von Dermatansulfat wird mit der Fähigkeit Zugkräfte aufzunehmen assoziiert (Gillard et al. 1977b). Flint et al. (1974) interpretiert auch die höhere Konzentration von Keratansulfat in Sehnen als Anpassung an Zugbeanspruchung. Dermatansulfat in Hautgewebe wird in hohen Konzentrationen auch als Merkmal für ausgereiftes Gewebe erachtet (Flint et al. 1984) und soll damit neben der mechanischen Anforderung auch das Alter der Präparate kennzeichnen. Ähnlich erklären Bishop und Pearce (1993) das Auftreten von Keratansulfat in den knorpeligen Endplatten der Wirbelkörper mit dem zunehmenden Alter und gegebenenfalls dem Auftreten von altersbedingter Degeneration. In dieser Untersuchung wurden sowohl in den älteren als auch den jüngeren Spendern Dermatansulfat und Keratansulfat durchgehend in allen Bändern nachgewiesen. Deswegen gehen wir davon aus, dass zumindest bei den jüngeren Bändern die Zugbeanspruchung als Hauptursache für diese Markierung angesehen werden kann.

Chondroitin-4-Sulfat lässt sich bei den älteren Präparaten in allen Bereichen nachweisen. Bei den jüngeren Ligamenta gelingt dieser Nachweis nur stellenweise. Das Auftreten von Chondroitin-4-Sulfat kann man als Reaktion auf eine erhöhte lokale Druckbeanspruchung, die zusätzlich zur Zugbeanspruchung einwirkt interpretierten (Milz et al. 2005). Darüber hinaus kann dieser Befund aber zusätzlich auch Ausdruck eines möglichen Altersganges sein.

Chondroitin-6-Sulfat lässt sich in allen Enthesisregionen und in den meisten älteren Bändern in Bandmitte nachweisen. Bei den jüngeren Ligamenta ist die Markierung im Bandverlauf etwas schwächer ausgeprägt. Chondroitin-6-Sulfat, das vermehrt im Knorpel auftritt (Leonhardt 1990, Kreis & Vale 1999, Milz et al. 2005) ist in Verbindung mit Kollagen II ein

typischer Marker für Faserknorpel (Benjamin et al. 1995). Das Auftreten von faserknorpeligen Knochenanheftungszonen soll dem Schutz des Gewebes gegen Scherwirkungen dienen und das Risiko von lokaler Überdehnung oder Ruptur vermindern (Benjamin & Ralphs 1995). An Stellen mit deutlicher lokaler Kompression lässt es sich ebenso in den zentralen Bereichen von Sehnen und Bändern nachweisen (Milz et al. 2005). Die weniger starke und häufige Ausprägung der beiden Marker bei jüngeren Spendern kann in der (noch) geringeren Druckbeanspruchung des Lig. coracoacromiale bei voll funktionsfähiger neuromuskulärer Steuerung der Schultermuskeln des jungen Menschen begründet sein. Es kann spekuliert werden, dass mit Nachlassen der Wirksamkeit der neuromuskulärer Steuerung der Schultermuskeln beim älteren Menschen, das Lig. coracoacromiale zunehmend öfter als Begrenzung der Exkursionen des Caput humeri dient.

Die zwei unterschiedlichen nativen Epitope des Chondroitin-6-Sulfats stellen sich in einem diffusen Markierungsmuster dar. Dabei färben 3B3- und 7D4 im Großen und Ganzen in denselben Bändern übereinstimmende Regionen, die in anderen Färbungen auch vermehrt Marker für Faserknorpel aufweisen. Das Auftreten beider Markierungen wird bei adulten Geweben bislang als Zeichen von Degeneration von Bandscheibengewebe oder Gelenkknorpel gewertet (Caterson et al. 1990, Carney et al. 1992, Roberts et al. 1994, Slater et al. 1995). Es ist schwierig zu beurteilen, ob in den hier untersuchten Bändern der älteren Spender diese Markierungen bereits eine beginnende Degeneration erkennen lassen. Allerdings spekulieren schon Milz et al. (2005), dass das Auftreten dieser seltenen Epitope des Chondroitin-6-Sulfats speziell in den faserknorpeligen Regionen bedeuten könnte, dass sich degenerative Veränderungen zuerst in den Faserknorpeln manifestieren und erst später in anderen benachbarten artikulären Geweben auftreten.

4.2.3 Proteoglykane

Proteoglykane werden aus einem Kernprotein und daran kovalent gebundenen Glykosaminoglykanketten gebildet. Es sind große Polyanionen, die Wasser und Kationen binden und dadurch die viskoelastischen Eigenschaften des Gewebes bei mechanischer Deformation gewährleisten. Die Verteilung und die Häufigkeit der Proteoglykane stehen in Zusammenhang mit der mechanischen Beanspruchung sowie mit dem Gewebsphänotyp. Versican und Tenascin finden sich charakteristischerweise im straffen Bindegewebe. Kommt es in Sehnen infolge vermehrter Druckbelastung zum zunehmend faserknorpeligen Umbau

nehmen die Vorkommen von Versican und Tenascin ab, während die Expression von Aggrecan und Link Protein verstärkt wird (Milz 2002, Milz et al. 2005). Tenascin und vor allem Versican sind in allen Bereichen der Bänder deutlich positiv markiert. Es zeigt sich bei den älteren Bändern im Vergleich zu den jüngeren Präparaten eine tendenzielle Abschwächung der Markierung vor allem für Tenascin sowie eine Zunahme des Nachweises von Aggrecan und Link Protein.

Aggrecan ist ein großes Proteoglykan und kommt charakteristischerweise in Knorpelgewebe vor (Heinegard & Oldberg 1993). Als Strukturmolekül mit hoher Konzentration von fixierten Ladungen bildet es durch die Schaffung hyperosmotischer Bedingungen im extrazellulären Raum ein festes, reversibel verformbares Gel, das Kompression widerstehen kann (Doege et al. 1993), sofern es am jeweiligen Ort fixiert werden kann. Vor allem in Verbindung mit Kollagen II ist seine besondere Widerstandsfähigkeit gegen Druck beschrieben worden (Jackson et al. 1991). Folgerichtig konnte im Faserknorpel unter erhöhter Druckbeanspruchung das gemeinsame lokale Auftreten von Aggrecan und Kollagen II registriert werden (Benjamin et al. 1991, Robbins et al. 1997, Evanko & Vogel 1993). Milz et al. (2005) weisen allerdings darauf hin, dass es auch hier eine von der Größe und Dauer der einwirkenden Kraft abhängige Reihenfolge hinsichtlich des Auftretens der Matrixproteine im Gewebe gibt. So kann man Aggrecan bei intermittierend einwirkender Druckbeanspruchung bereits nachweisen, wenn Kollagen II noch nicht vorkommt (Milz et al. 2005). Im Gewebe ist Aggrecan wohl mit dem größten Teil des Chondroitin-6-Sulfates assoziiert, wie es beispielsweise für die druckbeanspruchten Bereiche der tiefen Beugesehnen bei erwachsenen Rindern gezeigt wird (Vogel 1995, Robbins et al. 1997). Im Lig. coracoacromiale wird Aggrecan in allen Knochenanheftungszonen stark markiert. Im mittleren Bandteil kann es hauptsächlich bei den älteren Bändern nachgewiesen werden.

Link Protein ist bei dieser Untersuchung in allen untersuchten Enthesisregionen nachweisbar. Einen deutlichen Unterschied findet man jedoch beim Vergleich der Bänder von älteren Spendern mit denen der jüngeren Spender. In den alten Bändern ist Aggrecan deutlich stärker nachweisbar und die markierte Region größer. Hinzu kommt, dass Aggrecan sich auch in Bandmitte findet, was im Gegensatz zu den Befunden der Präparate jüngerer Spender steht.

Link Protein ist ein extrazelluläres Glykoprotein, das für die Stabilisierung der Interaktion von Aggrecan und Hyaluronsäure benötigt wird und damit Bildung und Erhaltung der

Knorpelmatrix unterstützt (Watanabe & Yamada 1999). Es ist neben Aggrecan auch eines der wichtigen Autoantigene bei Erkrankungen des rheumatoiden Formenkreises (Guerassimov et al. 1997,1998, Zhang et al. 1998) und konnte in diesem Zusammenhang in Faserknorpelgeweben nachgewiesen werden, die häufig Manifestationen der rheumatoiden Arthritis zeigen (Milz 2002).

4.2.4 Matrixproteine

In der vorliegenden Untersuchung konnte COMP (Cartilage oligmomeric matrix protein) in allen Bandbereichen detektiert werden. COMP, auch bekannt unter dem Namen Thrombospondin 5, ist ein Glykoprotein aus der Thrombospondin-Familie der extrazellulären, Calzium bindenden Proteine. Es spielt eine Rolle bei der Organisation der Kollagenfibrillen und konnte in verschiedenen Geweben in der Umgebung von Gelenken, sowie in Bändern, Menisken, Sehnen und Synovialgewebe identifiziert werden. Bei Jordan et al. (2004) wird das Vorkommen von COMP im Serum als Biomarker für Osteoarthritis diskutiert. Patienten mit Osteoarthritis weisen erhöhte COMP-Serumwerte auf (Neidhart et al. 1997) und in Longitudinalstudien konnten steigende COMP-Werte mit dem Fortschreiten einer Osteoarthritis am Knie korreliert werden (Sharif et al. 1995, Peterson et al. 1998).

Cartilage matrix protein (CMP) konnte in den untersuchten Präparaten in den meisten Bandbereichen zumindest stellenweise nachgewiesen werden. CMP bzw. Matrilin-1 ist ein nicht-kollagenes Matrixprotein welches in Knorpelgewebe nachgewiesen wird (Paulmon et al. 1981, Paulsson et al. 1982). Die genaue Funktion des Proteins ist unbekannt, es bindet sowohl an Kollagen als auch an Aggrecan und kann auch Kollagen unabhängige Fibrillen bilden. Es spielt zudem eine gewisse Rolle beim Aufbau der Knorpelmatrix (Winterbottom et al. 1992, Tondravi et al. 1993, Hauser et al. 1996, Chen et al. 1995). Okimura et al. (1997) konnte eine erhöhte CMP-Synthese in arthritischen Gelenken nachweisen und vermutet, dass CMP bei der Zerstörung bzw. Umbildung von Knorpelgewebe beteiligt ist.

4.3 Schlussfolgerung

Die Ergebnisse zeigen, dass das Lig. coracoacromiale über große Faserknorpelbereiche sowohl an der Ansatzstelle des Acromions als auch des Proc. coracoideus verfügt. Das

Auftreten von Faserknorpel an der Ansatzstelle des Acromions könnte erklären, warum sich an dieser Stelle öfter Knochensporne entwickeln. Ogata et al (1990) vermutet, dass die faserknorpelige Schicht den Boden bereitet, auf dem in einem späteren Stadium durch enchondrale Ossifikation der eigentliche Knochensporn (Osteophyt) entsteht. Möglicherweise ist die Entstehung eines Knochensporns vor allem auf akromialer Seite des Bandes auf die besondere Beanspruchung zurückzuführen, die sich aus der Insertion des Bandes an der Unterseite des Acromions ergibt. Hinzukommt, dass die größte gemessene Kraft auf das Band im Bereich des akromialen Ansatzes an der Unterseite des Acromions wirkt (Wuelker et al, 1994, 1995). Eine solche Druckausübung auf die Unterseite des Bandes muss das Ligament dehnen und wird zur Ausbildung von knöchernen Anbauten am Acromion anregen (Burns & Whipple 1993).

Es findet sich im Verlauf des Bandes ein, verglichen mit der Enthesis, etwas schwächerer Faserknorpel, der aber (bei den älteren Bändern etwas stärker als bei den jungen Präparaten) durchaus die charakteristischen Matrixproteine eines unter lokaler Druckbeanspruchung stehenden Ligaments aufweist. Wir vermuten, dass diese Beanspruchung durch intermittierenden Druck des Humerus auf den Fornix bei bestimmten Bewegungen entsteht. Dies steht allerdings im Widerspruch mit in der Literatur tradierten Aussagen, denen zufolge bei der Abduktion der oberen Extremität eines gesunden Menschens keine Druckkräfte vom Caput humeri oder dem Tuberculum majus humeri auf das Schulterdach übertragen werden (Tillmann et al. 1986, Putz et al. 1990). Wörsdörfer et al. (1984) vermutet, dass die aktive muskuläre Führung des Humeruskopfes durch die Anspannung der Supraspinatussehne dessen Hochtreten und eine Einengung des subacromialen Raumes verhindern kann. Ähnliches belegen Wasmer et al. (1985): bei Untersuchungen in situ zeigte eine radiologische Kontrolle der Bewegung im Schultergelenk nach Markierung der Bandanteile mit Draht kein Herantreten des Kopfes an das Schulterdach oder eine Verformung des Bandes, wie es bei der Funktion eines osteoligamentären Widerlagers zu erwarten wäre. Lediglich bei Erkrankungen im Bereich der Schulter wird eine Kompression des Lig. coracoacromiale durch das Caput humeri oder das Tuberculum majus humeri beschrieben (Putz et al. 1990). So soll bei einem Hochstand des Humeruskopfes, am ehesten als Folge einer neuromuskulären Fehlsteuerung des Schultergelenkes im Bewegungsablauf der Abduktion nach lateral und dorsal die obere Facette des Tuberculum majus an die Außen-

bzw. Unterkante der Fornix humeri „schlagen“, wobei auch hier je nach Bewegungsführung das Lig. coracoacromiale komprimiert wird (Laumann 1986, Perry 1988).

In diesem Sinne könnte man die im Rahmen dieser Untersuchung erhobenen immunhistochemischen Befunde bei den älteren Spendern als Folge von pathologischer Druckbeanspruchung des Lig. coracoacromiale interpretieren. Folgt man dieser Idee, bleibt jedoch die Frage nach den Ursachen des zwar schwächeren aber durchaus vorhandenen faserknorpeligen Umbaus in der Mitte des Ligaments bei den jüngeren Individuen. Das Auftreten von Faserknorpel ist die Antwort des Bindegewebes auf intermittierende Druckbeanspruchung (Ogata 1990, Milz 2002). Dies per se stellt keinen pathologischen Prozess dar, sondern ist vielmehr eine Reaktion des Gewebes auf die spezifische mechanische Situation (Mohr 1988, Milz 2002). Aus diesem Grund vermuten wir, dass es zu einer maßgeblichen, intermittierend einwirkenden Druckübertragung in diesem Bereich auch bei gesunden Menschen kommt. Daraus lässt sich schließen, dass das Vorkommen von Faserknorpel im Lig. coracoacromiale auch physiologischerweise ohne zugrunde liegende pathologische Prozesse auftritt.

Natürlich lassen wir nicht außer Acht, dass ein markanter ausgeprägter Faserknorpel bei den älteren Probanden in Bandmitte zu finden war und hier die ausgedehnte faserknorpelige Metaplasie wohl hauptsächlich in Folge des Alters anzutreffen war. Eine elegante Erklärung bietet hier die Summation der Auswirkung von Druckbeanspruchung im Laufe des Lebens.

Bei der Auswertung der Proben fiel darüber hinaus das Vorkommen von Fettgewebe im Lig. coracoacromiale auf, das bisher so in der Literatur nicht beschrieben war. Das Auftreten von Fett in Sehnen und Bändern wurde bis vor kurzem als Zeichen der Degeneration betrachtet (Józsa and Kannus 1997). Benjamin et al. (2004) eröffneten kürzlich eine neue Interpretationsmöglichkeit, der zufolge das Fett möglicherweise die Druckverteilung im Gewebe günstig beeinflusst und als Teil eines „mechanosensory organ“ der Enthesis fungiert. Dafür spricht, dass das Fettgewebe am Unterrand des Bandes und im Enthesisbereich Nervenfasern enthält, obgleich der Faserknorpel der Enthesis normalerweise nicht innerviert ist. Welcher Art diese Nervenfasern sind, ob Mechanorezeptoren oder freie Nervenendigungen vorliegen, kann im Rahmen dieser Untersuchung nicht beantwortet werden. Möglich wäre, dass die Nervenfasern im Band das morphologische Korrelat für die sensorische Modulation von Muskelreflexen darstellen, welche von Bändern und Sehnen beeinflusst wird (Diederichsen et al 2004). Steckt man beispielsweise eine Nadel in das

korakoakromiale Band, wird die Aktivität der Schultermuskeln gehemmt. Einige Arbeiten, welche sich mit der Innervation von Sehnen und Bändern (Diederichsen et al 2002, Morisawa 1998) beschäftigen, zeigen, dass dem Fettgewebe in Bändern unter anderem eine funktionelle Assoziation mit nervalen Strukturen zugestanden werden muss.

Das Lig. coracoacromiale weist an beiden knöchernen Anheftungsstellen einen kräftig ausgeprägten Enthesis Faserknorpel auf. Dies ist schon deshalb bemerkenswert, weil das Band nicht verschiedene Knochen, sondern stattdessen zwei Teile ein und desselben Knochens (Scapula) miteinander verbindet. Dementsprechend können Gelenkbewegungen, die normalerweise zur Richtungsänderung der Kollagenfasern im Enthesisbereich führen, hier nicht vorkommen. Damit fehlt zunächst scheinbar ein wesentlicher Mechanismus, der durch verstärkte Scherbeanspruchung („stress concentration“) an der Anheftungsstelle des Bandes, normalerweise mit der Bildung und Existenz eines Enthesisfaserknorpels in Zusammenhang gebracht wird (Evans et al. 1990, Benjamin & Ralphs 1995, 1998).

Ein näherer Blick auf die komplexe Struktur und Funktion der Scapula hilft, die Situation zu verstehen. Acromion und Proc. coracoideus, stellen weit vorragende Muskelursprünge dar, die vor allem den zum Arm ziehenden Muskeln zu einem günstigeren Drehmoment verhelfen. Das Lig. coracoacromiale dient dabei für beide Fortsätze je nach Stellung im Schultergelenk wechselweise als Zuggurtung (Tichy et al. 1985, Putz et al. 1988). Durch die Übernahme einer dynamischen Gurtungsfunktion des Bandes (Wasmer et al. 1985) entwickelt sich eine große Stresskonzentration an seinen Anheftungsbereichen. Der kräftig ausgeprägte Enthesisfaserknorpel ist in diesem Zusammenhang eine Hilfe zur Verteilung der Stresskonzentration und reduziert das Risiko von Verschleiß und Ruptur (Woo et al. 1988). Man kann sich gut vorstellen, dass es bei kurzen und kräftigen, impulsartigen Belastungen zu einem starken Anstieg der Zugbeanspruchung kommt, und dass dies der Stimulus der Ausbildung des Enthesis Faserknorpels ist. Das verstärkte Vorkommen von Aggrecan und Link Protein an der Enthesis kann erklären, warum trotz starker Zugwirkung keine Verringerung des Banddurchmessers an der Anheftungszone am Knochen erfolgt, was eigentlich bei einer Längenänderung des Bandes aufgrund Zug zu befürchten wäre. Aggrecan lagert aufgrund seiner osmotischen Eigenschaften große Wassermengen ein und setzt so einer Verformung durch Druck Widerstand entgegen (Waggett et al. 1998). Dies unterstützt die von Knese und Biermann (1958) aufgestellte Theorie, dass Faserknorpel an der Enthesis als „Dehnungsbremse“ wirkt. Die Scapula ist enormen Kräften während

Schulterbewegungen ausgesetzt und diese wirken sich auf ihre Bänder aus. Dies konnte auch Morrigl et al. (2001) bei der Untersuchung des Lig. transversum scapulae nachweisen, wo ebenfalls ein kräftiger Enthesisfaserknorpel vorhanden ist.

Aus klinischer Sicht ist der Nachweis einiger Faserknorpelproteine im Lig. coracoacromiale im Zusammenhang mit Erkrankungen aus dem rheumatoiden Formenkreis interessant. Das Vorkommen von Kollagen II, Aggrecan und Link Protein in Faserknorpeln wurde bereits in anderen Bändern mit der Manifestation einer rheumatoiden Arthritis in Zusammenhang gebracht (Milz et al. 2001, Boszczyk et al. 2003). So wurde die Spaltung von Aggrecan durch das Enzym Aggrecanase im hyalinen Knorpel als charakteristisches Kennzeichen der rheumatoiden Arthritis beschrieben (Caterson et al. 1999, Lohmander et al. 1993) und Link Protein wird als eines der wesentlichen antigenen Ziele bei den Autoimmunprozessen im Rahmen der juvenilen und adulten Formen der rheumatoiden Arthritis angesehen (Guerassimov et al. 1997, 1998, Zhang et al. 1998). Die beiden Matrixproteine CMP und COMP werden ebenfalls mit dem Auftreten von Erkrankungen aus dem rheumatoiden Formenkreis assoziiert (Neidhart et al. 1997, Sharif et al. 1995, Peterson et al. 1998, Okimura et al. 1997). Bei Patienten mit rheumatoider Arthritis ist das Schultergelenk nach einer durchschnittlichen Krankheitsdauer von zehn Jahren in 50% der Fälle mitbetroffen. Wenn auch pathologische Veränderungen des Lig. coracoacromiale im Zusammenhang mit Krankheiten aus dem rheumatoiden Formenkreis in der Literatur bisher nicht beschrieben sind, so ist es doch wahrscheinlich, dass das Band im Sinne einer Panarthropathie mitbetroffen ist, zumal insbesondere die angrenzende Bursa subacromialis häufig von rheumatischen Entzündungsvorgängen betroffen ist (Chapchal 1984, Frediani et al 2002, Souter 1983, Lehtinen et al 2000). Auch aufgrund des Vorliegens der potenziellen Autoantigene Aggrecan, Link Protein, COMP und CMP ist von einer Affektion des Ligaments bei Fällen von rheumatoider Arthritis auszugehen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit wurde mit Hilfe histologischer und immunhistochemischer Methoden der Aufbau und die Zusammensetzung der extrazellulären Matrix des Lig. coracoacromiale des Menschen untersucht. Verwendet wurden 9 Präparate aus dem Anatomischen Institut mit einem mittleren Alter von 74,7 Jahren und 6 Proben aus dem Rechtsmedizinischen Institut mit einem mittleren Alter von 27,2 Jahren. Ziel dieser Arbeit war es, eine detaillierte Beschreibung der regionalen molekularen Zusammensetzung der extrazellulären Matrix zu liefern. Dabei wurde das besondere Augenmerk auf die Unterschiede zwischen den beiden Altersgruppen gelegt, um so indirekt auch auf die physiologische Funktion und mechanische Situation des Bandes Rückschlüsse ziehen zu können.

An den Anheftungszonen des Bandes an den jeweiligen Knochenvorsprüngen lassen sich in markanter flächiger Ausprägung Chondroitin-6-Sulfat, Kollagen II, Aggrecan und Link Protein als charakteristische Marker von Faserknorpelgewebe nachweisen. Ebenso konnten im Verlauf des Bandes diese für Faserknorpel typischen Proteine in beiden Altersgruppen (etwas abgeschwächt in der jüngeren Gruppe) detektiert werden. In der Annahme, dass das Entstehen von Faserknorpel Ausdruck eines funktionellen Anpassungsprozesses des Gewebes an spezifische mechanische Beanspruchung ist, muss im Hinblick auf die Ergebnisse dieser Arbeit festgestellt werden, dass eine nennenswerte Druckübertragung zwischen Caput humeri und korakoakromialen Bogen stattfindet. Da die Ergebnisse sich in beiden Altersgruppen qualitativ entsprechen, nehmen wir an, dass diese mechanische Situation schon im physiologischen Zustand besteht.

Das Auftreten von Fettgewebe an der Unterseite des Bandes und am Rand der Enthesisregion wurde bisher meist als degenerative Veränderung interpretiert. In Anlehnung an Benjamin et al. (2004) vermuten wir, dass das Fettgewebe, zur günstigeren Druckverteilung im Gewebe und als Hüllgewebe für kleine Nervenfasern dient. Insgesamt könnte die beobachtete Konfiguration Ausdruck eines mechanosenorischen Komplexes sein, welcher der Modulation von Muskelreflexen im Schulterbereich dient.

Klinische Relevanz gewinnt das Auftreten bestimmter Moleküle im Zusammenhang mit der Manifestation von Erkrankungen aus dem rheumatoiden Formenkreis. Einen wesentlichen Part bei entzündlichen Vorgängen übernehmen Autoimmunprozesse gegen faserknorpelige

Bestandteile der extrazellulären Matrix wie Kollagen II, Aggrecan, Link Protein, COMP und CMP. Das Vorkommen dieser Proteine in der extrazellulären Matrix des Lig. coracoacromiale lässt auf einen Mitbefall dieser Struktur bei rheumatischen Erkrankungen schließen.

6 LITERATURVERZEICHNIS

Benjamin M, Evans EJ, Copp L. The histology of tendon attachments in man. J. Anat. 149: 89-100, 1986

Benjamin M, Evans EJ. Fibrocartilage. J. Anat. 171: 1-15, 1990

Benjamin M, Tyers RNS, Ralphs JR. Age-related changes in tendon fibrocartilage. J. Anat. 179: 127-136, 1991

Benjamin M, Qin S, Ralphs JR. Fibrocartilage associated with human tendons and their pulleys. J. Anat.187: 625-33, 1995

Benjamin M, Ralphs JR. Functional and developmental anatomy of tendons and ligaments. In: Gordon SL, Blair SJ, Fine LJ, eds. Repetitive Motion Disorders of the Upper Extremity.

Rosemont: American Academy of Orthopaedic Surgeons: 185-203, 1995

Benjamin M, Ralphs JR. Tendons and ligaments - an overview. Histol. Histopathol. 12: 1135-44, 1997

Benjamin M, Ralphs JR. Fibrocartilage in tendons and ligaments - an adaptation to compressive load. J. Anat. 193: 481-94, 1998

Benjamin M, Kumai T, Milz S, Boszczyk BM, Boszczyk AA, Ralphs JR. The skeletal attachment of tendons--tendon "entheses". Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 133: 931-45, 2002

Benjamin M, Redman S, Milz S, Buttner A, Amin A, Moriggl B, Brenner E, Emery P, McGonagle D, Bydder G. Adipose tissue at entheses: the rheumatological implications of its distribution. A potential site of pain and stress dissipation. Ann Rheum Dis. 63(12): 1549-55, 2004 Dec

Benjamin M, Toumi H, Ralphs JR, Bydder G, Best TM, Milz S. Where tendons and ligaments meet bone: attachment sites ('entheses') in relation to exercise and/or mechanical load. J Anat. 208: 471-90, 2006

Benninghoff, Drenckhahn. Anatomie I. Urban und Fischer, München, 16. Auflage, 2003

Bishop PB, Pearce RH. The proteoglycans of the cartilaginous end-plate of the human intervertebral disc change after maturity. J Orthop Res 11: 324-331, 1993

Boskey AL, Cohen ML, Bullough P. Hard Tissue Biochemistry: A Comparison of Fresh-Frozen and Formalin-Fixed Tissue samples. Calcif Tissue int. 34: 328-331, 1982

Boszczyk AA, Boszczyk BM, Putz R, Benjamin M, Milz S. Expression of a wide range of fibrocartilage molecules at the entheses of the alar ligaments – possible antigenic targets for rheumatoid arthritis? J Rheumat 30: 1420-1425, 2003

Bray DF, Bray RC, Frank CB; Ultrastructural immunolocalization of type-VI collagen and chondroitin sulfate in ligament. J Orthop Res 11: 677-85, 1993

Burgeson RE, Nimni ME.Collagen types. Molecular structure and tissue distribution. Clin Orthop 282: 250-272, 1992

Burns WC 2nd, Whipple TL. Anatomic relationships in the shoulder impingement syndrome. Clin Orthop Relat Res. 94: 96-102, 1993

Carney SL, Billingham ME, Caterson B, Ratcliffe A, Bayliss MT, Hardingham TE, Muir H. Changes in Proteoglycan turnover in experimental canine osteoarthritic cartilage. Matrix 12: 137-147, 1992

Caterson B, Mahmoodian F, Sorrell JM, Hardingham TE, Bayliss MT, Carney SL, Ratcliffe A, Muir H. Modulation of native chondroitin sulfate structure in tissue development and in disease. J Cell Sci. 97: 411-407, 1990

Caterson B, Flannery CR, Hughes CE, Little CB. Mechanisms of proteoglycan metabolism that lead to cartilage destruction in the pathogenesis of arthritis. Drugs of Today 35: 397-402, 1999

Carvalho de HF. Understanding the biomechanics of tendon fibrocartilages. J. Theor. Biol. 172: 293-297, 1995

DePalma AF, Cooke AJ, Prabhakar M. The role of the subscapularis in recurrent anterior dislocations of the shoulder. Clin Orthop Relat Res. 54: 35-49, 1967

Chapchal G. Verletzungen und Erkrankungen der Schulterregion. 11. Internationales Symposium über spezielle Fragen der orthopädischen Chirurgie. Thieme, Stuttgart, 1984

Chen Q, Johnson DM, Haudenschild DR, Tondravi MM, Goetinck PF. Cartilage matrix protein forms a type II collagen-independent filamentous network: analysis in primary cell cultures with a retrovirus expression system. Mol Biol Cell. 6: 1743-53, 1995

Diederichsen L, Krogsgaard M, Voigt M, Dyhre-Poulsen P. Shoulder reflexes. J Electromyogr Kinesiol. 12: 183-91, 2002

Diederichsen LP, Norregaard J, Krogsgaard M, Fischer-Rasmussen T, Dyhre-Poulsen P. Reflexes in the shoulder muscles elicited from the human coracoacromial ligament. J Orthop Res. 22: 976-83, 2004

Doege K, Hassell JR, Caterson B, Yamada Y. Link protein cDNA sequence reveals a tandemly repeated protein structure. Proc. Natl. Acad. Sci. 83: 3761-5, 1986

Dvorak J, Schneider E, Saldinger P, Rahn B. Biomechanics of the craniocervical region: The alar and transverse ligaments. J. Orthop. Res. 6: 452-461, 1988

Eulert J, Gekeler J. Die Rolle des Lig. coracoacromiale bei degenerativ-entzündlichen Erkrankungen der Rotatorenmanschette. Orthopädische Praxis 11: 310, 1975

Evanko SP, Vogel KG. Proteoglycan synthesis in fetal tendon is differentially regulated by cyclic compression in vitro. Arch. Biochem. Biophys. 307: 153-164, 1993

Evans EJ, Benjamin M, Pemberton DJ. Fibrocartilage in the attachment zones of the quadriceps tendon and patellar ligament of man. J. Anat. 171: 155-62, 1990

Flint MH. Pathogenesis of osteoarthrosis (Letter). Lancet 865: 1047-1048, 1974

Flint MT, Craig AS, Reilly HC, Gillard GC, Parry DA. Collagen fibril diameters and glycosaminoglycan content of skins – indices of tissue maturity and function. Connect. Tissue Res. 13: 69-81, 1984

Frediani B, Falsetti P, Storri L, Bisogno S, Baldi F, Campanella V, Acciai C, Filippou G, Chellini F, Cosentino R, Marcolongo R. Evidence for synovitis in active polymyalgia rheumatica: sonographic study in a large series of patients. J Rheumatol. 29: 123-30, 2002

French D, Edsall JT. The reactions of formaldehyde with amino acids and proteins. Adv. Protein Chem. 2: 277-335, 1945

Gelberman R, Goldberg V, An K-N, Banes A. Tendon. In: Woo SL-Y, ed. Injury and Repair of the Musculosceletal Soft Tissues. Park Ridge: American Academy of Orthopaedic Surgeons: 5-40, 1988

Gillard GC, Merrilees MJ, Bell-Booth PG, Reilly HC, Flint MH. The proteoglycan content and the axial periodicity of collagen in tendon. Biochem. J. 163: 145-151, 1977

Guerassimov A, Duffy C, Zhang Y, Banerjee S, Leroux JY, Reimann A, Webber C, Delaunay N, Vipparti V, Ronbeck L, Cartman A, Arsenault L, Rosenberg LC, Poole AR. Immunity to cartilage link protein in patients with juvenile rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 24: 959-64, 1997

Guerassimov A, Zhang Y, Banerjee S, Cartman A, Webber C, Esdaile J, Fitzcharles MA, Poole AR. Autoimmunity to cartilage link protein in patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. J. Rheumatol. 25: 1480-4, 1998

Hauser N, Paulsson M, Heinegard D, Morgelin M. Interaction of cartilage matrix protein with aggrecan. Increased covalent cross-linking with tissue maturation. J Biol Chem. 271: 32247-52, 1996

Heinegård D, Oldberg O. Glycosylated matrix proteins. In: Royce PM, Steinmann B, eds. Connective Tissue and its Heritable Disorders. New York: Wiley&Liss: 189-209, 1993

Jackson RL, Bush SJ, Cardin AD. Glycosaminoglycans: Molecular properties, protein interactions and role in physiological processes. Physiol. Rev. 71: 481-539, 1991

Jerosch J, Moersler M, Castro WH. The function of passive stabilizers of the glenohumeral joint--a biomechanical study. Z Orthop Ihre Grenzgeb.128: 206-12, 1990

Jordan JM. Cartilage oligomeric matrix protein as a marker of osteoarthritis. J Rheumatol Suppl. 70: 45-9, 2004

Jozsa L, Kannus P. Histopathological findings in spontaneous tendon ruptures. Scand J Med Sci Sports. 7: 113-8, 1997

Kapandji IA. Funktionelle Anatomie der Gelenke. Band I. Enke, Stuttgart, 1984

Kielty CM, Shuttleworth CA. Synthesis and assembly of fibrillin by fibroblasts and smooth muscle cells. J. Cell Sci.106: 167-73, 1993

Kiernan JA. Histological und histochemical methods: theory and practice. Butterworth-Heinemann, Oxford, Auckland, Boston: 390-418, 1999

Knese KH, Biermann H. Die Knochenbildung an Sehnen und Bandansätzen im Bereich ursprünglich chondraler Apophysen. Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie 49: 142-187, 1958

Kreis T, Vale R. Guidebook to the extracellular matrix and adhesion proteins. Oxford University Press, Oxford, 1993

Kreis T, Vale R. Guidebook to the extracellular matrix, anchor and adhesion proteins. Second edition. Oxford University Press, Oxford, 1999

Kummer B. Bauprinzipien des Säugerskelettes. Thieme, Stuttgart, 1959

Kummer B. Funktioneller Bau und funktionelle Anpassung des Knochens. Anat. Anz. 110: 261-293, 1962

Kummer B. Die Beanspruchung des menschlichen Hüftgelenks. Anat. Embryol. 127: 277-285, 1968

Kummer B. Mechanische Beanspruchung und funktionelle Anpassung des Knochens. Verh. Anat. Ges. 72: 21-46, 1978

Kummer B. Bau und Funktion des Bewegungsapparates. In: Witt A, Rettig H, Schlegel K, Hackenbroch M, Hupfauer, Hrsg. Orthopädie in Praxis und Klinik. Band I. Allgemeine Orthopädie. Thieme, Stuttgart, 1980

Kummer B. Anatomie und Biomechanik des Schultergelenks. Therapiewoche 35: 308-314, 1985

Lanz v T, Wachsmuth W. Praktische Anatomie, Der Arm. Springer, Berlin, 1959

Laumann U. Kinesiologie des Schultergelenks. In: Kölbel R, Helwig B, Blauth W, Hrsg. Schulterendoprothetik. Springer, Berlin, 1986

Leonhardt H. Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen. Thieme, Stuttgart, 8. Auflage, 1990

Lehtinen JT, Belt EA, Lyback CO, Kauppi MJ, Kaarela K, Kautiainen HJ, Lehto MU. Subacromial space in the rheumatoid shoulder: a radiographic 15-year follow-up study of 148 shoulders. J Shoulder Elbow Surg. 9: 183-7, 2000

Lewis AR, Ralphs JR, Kneafsey B, Benjamin M. Distribution of collagens and glycosaminoglycans in the joint capsule of the proximal interphalangeal joint of the human finger. Anat Rec. 250: 281-91, 1998

Lohmander LS, Neame PJ, Sandy JD. The structure of aggrecan fragments in human synovial fluid. Evidence that aggrecanase mediates cartilage degradation in inflammatory joint disease, joint injury, and osteoarthritis. Arthritis Rheum. 36: 1214-22, 1993

Meyer H. Die Architektur der Spongiosa. Archiv für Anatomie und Physiologie: 615-628, 1867

Milz S, Putz R. Quantitative morphology of the subchondral plate of the tibial plateau. J. Anat. 185: 103-110, 1994

Milz S, Eckstein F, Putz R. The thickness of the subchondral plate and its correlation with the thickness of the uncalcified articular cartilage in the human patella. Anat. Embryol. 192: 437-44, 1995

Milz S, Schlüter T, Putz R, Moriggl B, Ralphs JR, Benjamin M. Fibrocartilage in the transverse ligament of the human atlas. Spine 26: 1765-71, 2001

Milz S. Molekulare Parameter der mechanischen Beanspruchung des faserreichen Bindegewebes. Habilitationsschrift. München 2002

Milz S, Benjamin M, Putz R. Molecular parameters indicating adaptation to mechanical stress in fibrous connective tissue. Adv Anat Embryol Cell Biol. 178: 1-71, 2005

Mohr W. Pathologie des Bandapparates. In: Doerr W, Seifert G (Hrsg.). Spezielle und pathologische Anatomie. Band 19. Springer, Berlin, 1988

Moriggl B, Jax P, Milz S, Büttner A, Benjamin M. Fibrocartilage at the entheses of the suprascapular ligament of man – a ligament spanning two regions of a single bone. J. Anat. 199: 539-545, 2001

Morisawa Y. Morphological study of mechanoreceptors on the coracoacromial ligament. J Orthop Sci. 3(2): 102-10, 1998

Neidhart M, Hauser N, Paulsson M, DiCesare PE, Michel BA, Hauselmann HJ. Small fragments of cartilage oligomeric matrix protein in synovial fluid and serum as markers for cartilage degradation. Br J Rheumatol 36: 1151-60, 1997

Ogata S, Uhthoff HK. Acromial enthesopathy and rotator cuff tear. A radiologic and histologic postmortem investigation of the coracoacromial arch. Clin Orthop Relat Res. 254: 39-48, 1990

Okimura A, Okada Y, Makihira S, Pan H, Yu L, Tanne K, Imai K, Yamada H, Kawamoto T, Noshiro M, Yan W, Kato Y. Enhancement of cartilage matrix protein synthesis in arthritic cartilage. Arthritis Rheum. 40: 1029-36, 1997

Paulsson M, Heinegard D. Radioimmunoassay of the 148-kilodalton cartilage protein. Distribution of the protein among bovine tissues. Biochem J. 207: 207-13, 1982

Paulsson M, Inerot S, Heinegard D. Variation in quantity and extractability of the 148-kilodalton cartilage protein with age. Biochem J. 221: 623-30, 1984

Pauwels F. Die Bedeutung der Bauprinzipien der unteren Extremität für die Beanspruchung des Beinskeletes. Z. Anat. Entw. Gesch. 114: 525-538, 1949

Pauwels F. Eine neue Theorie über den Einfluß mechanischer Reize auf die Differenzierung der Stützgewebe (X . Beitrag zur funktionellen Anatomie und kausalen Morphologie des Stützgewebes). Z. Anat. Entw. Gesch. 121: 478-515, 1960

Pauwels F. Die Druckverteilung im Ellenbogengelenk. Z. Anat. Entw. Gesch. 123: 643-667, 1963

Pauwels F. Gesammelte Abhandlungen zur funktionellen Anatomie des Bewegungsapparates. Springer, New York, 1965

Pauwels F. Über die Bedeutung der Markhöhle für die mechanische Beanspruchung des Röhrenknochens. Z. Anat. Entw. Gesch. 145: 81-85, 1974

Pauwels F. Über die gestaltende Wirkung der funktionellen Anpassung des Knochens. Anat.Anz. 139: 213-220, 1976

Perry J. Muscle control of the shoulder. In: Rowe CR (ed.) The shoulder. Churchill Livingstone, New York, 1988

Petersson IF, Boegard T, Svensson B, Heinegard D, Saxne T. Changes in cartilage and bone metabolism identified by serum markers in early osteoarthritis of the knee joint. Br J Rheumatol 347: 46-50, 1998

Putz R, Reichelt A, Liebermann M, v Eichhorn M. Mechanische Beanspruchung des Proc. Coracoideus unter verschiedenen Versuchsbedingungen. In: Refior HJ, Plitz W, Jäger M, Hackenbroch M, Hrsg. Biomechanik der gesunden und kranken Schulter. Thieme, Stuttgart, 1985

Putz R, Liebermann J, Reichelt A. Funktion des Lig. coracoacromiale. Acta Anat. 131: 140-145, 1988

Putz R, Reichelt A. Strukturelle Befunde am Lig. coracoacromiale bei Rotatorenmanschettenruptur, Tendinosis calcarea und Supraspinatussyndrom. Z. Orthopädie 128: 46-50, 1990

Rauber, Kopsch. Anatomie des Menschen. Lehrbuch und Atlas. Band I. Thieme, Stuttgart, 3. überarbeitete Auflag, 2003

Roberts S, Caterson B, Evans H, Eisenstein SM. Proteoglycan components of the intervertebral disc and cartilage endplate: an immunolocalization study of animal and human tissues. Histochem. J. 26: 402-411, 1994

Robbins JR, Evanko SP, Vogel KG. Mechanical loading and TGF-beta regulate proteoglycan synthesis in tendons. Arch. Biochem. Biophys. 342: 203-211, 1997

Romeo AA, Loutzenheiser T, Rhee YG, Sidles JA, Harryman DT, Matsen FA. The humeroscapular motion interface. Clin Orthop Relat Res. 350: 120-7, 1998

Roux W. Gesammelte Abhandlungen über die Entwicklungsmechanik der Organismen. Engelmann, Leipzig, 1885

Roux W. Über die Dicke der statischen Elementarteile und die Maschenweite der Substantia spongiosa der Knochen. Zeitschrift für orthopädische Chirurgie IV.Band. Separatdruck, 1896

Saldinger P, Dvorak J, Rahn BA, Perren SM. Histology of the alar and transverse ligaments. Spine 15: 257-261, 1990

Schiebler TH, Schmidt W. Anatomie. Springer, Berlin, 4. Auflage, 1987

Sharif M, Saxne T, Shepstone L, er al. Relationship between serum cartilage oligomeric matrix protein levels and disease progression in osteoarthritis of the knee joint. Br J Rheumatol 34: 306-10, 1995

Silver FH. A two step model for lateral growth of collagen fibrils. Coll. Rel. Res. 3: 167-79, 1983

Slater RR jr., Bayliss MT, Lachiewicz PF, Visco DM, Caterson B. Monoclonal antibodies that detect biochemical markers of arthritis in humans. Arthritis Rheum. 38: 655-659, 1995

Souter WA. The surgical treatment of the rheumatoid shoulder. Ann Acad Med Singapore. 12: 243-55, 1983

Standring S Gray's Anatomy : the anatomical basis of clinical practice. Elsevier Churchill Livingstone, Edinburgh, 2004

Tichy P, Tillmann B, Schleicher A. Funktionelle Beanspruchung des Fornix humeri. In: Refior HJ, Plitz W, Jäger M, Hackenbroch M, Hrsg. Biomechanik der gesunden und kranken Schulter. Tieme, Stuttgart, 1985

Tillmann B, Tichy P. Funktionelle Anatomie der Schulter. Unfallchirurg 89: 389-397, 1986

Tondravi MM, Winterbottom N, Haudenschild DR, Goetinck PF. Cartilage matrix protein binds to collagen and plays a role in collagen fibrillogenesis. Prog Clin Biol Res. 383B: 515-22, 1993

Vogel KG. Fibrocartilage in Tendon: A Response to Compressive Load. In: Gordon SL, Blair SJ, Fine LJ, (eds.) Repetitive Motion Disorders of the Upper Extremity. Rosemont: American Academy of Orthopaedic Surgeons: 205-215, 1995

Waggett A, Kwan A, Woodnutt D, Ralphs J, Benjamin M. Characterisation of collagens and proteoglycans at the insertion of the human Achilles tendon. Matrix Biol. 16: 457-70, 1998

Waldeyer A. Anatomie des Menschen. Zweiter Teil. De Gruyter, Berlin-New York, 1975

Watanabe M, Nojima M, Shibata T, Hamada M. Maturation-related biochemical changes in swine anterior cruciate ligament and tibialis posterior tendon. J. Orthop. Res. 12: 672-82, 1994

Watanabe H, Yamada Y. Mice lacking link protein develop dwarfism and craniofacial abnormalities. Nature Genetics 21: 225-229, 1999

Wasmer G, Hagena FW, Bergmann M, Mittlmeier T. Anatomische und biomechanische Untersuchungen des Lig. coracoacromiale am Menschen. In: Refior HJ, Plitz W, Jäger M, Hackenbroch M, Hrsg. Biomechanik der gesunden und kranken Schulter. Thieme, Stuttgart, 1985

Winterbottom N, Tondravi MM, Harrington TL, Klier FG, Vertel BM, Goetinck PF. Cartilage matrix protein is a component of the collagen fibril of cartilage. Dev Dyn. 193: 266-76, 1992

Wörsdörfer O, Wasmer G. Die operative Behandlung der Schultersteife. Hefte zur Unfallheilkunde 170: 150, 1984

Wolff J. Über die innere Architektur der Knochen und ihre Bedeutung für die Frage von Knochenwachstum. Virchows Arch. 50: 389-453, 1870

Wolff J. Das Gesetz der Transformation der inneren Architektur der Knochen bei pathologischen Veränderungen der äußeren Knochenform. Sitzungsber. Preuss. Akad. Wiss. 22: 179, 1884

Wolff J. Das Gesetz der Transformation der Knochen. Berlin, Hirschwald 1892 / Nachdruck Stuttgart, Schattauer 1991

Woo S, Maynard J, Butler D, Lyon R, Torzilli P, Akeson W. Ligament, tendon, and joint capsule insertion in bone. In: SL-Y Woo, JA Buchwalter (Hrsg.). Injury and Repair of the Musculoskeletal Soft Tissues. Park Ridge, Illinois: American Academy of Orthopaedic Surgeons, 1988

Wuelker N, Plitz W, Roetman B. Biomechanical data concerning the shoulder impingement syndrome. Clin Orthop Relat Res. 303: 242-9, 1994

Wuelker N, Roetman B, Roessig S. Coracoacromial pressure recordings in a cadaveric model. J Shoulder Elbow Surg. 4: 462-7, 1995

Zhang Y, Guerassimov A, Leroux JY, Cartman A, Webber C, Lalic R, de Miguel E, Rosenberg LC, Poole AR. Induction of arthritis in BALB/c mice by cartilage link protein: involvement of distinct regions recognized by T and B lymphocytes. Am. J. Pathol. 153: 1283-91, 1998

7 DANKSAGUNG

Mein ausdrücklicher Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Stefan Milz für die Überlassung des Themas, die Einführung in die wissenschaftliche Arbeit sowie für die geduldige und stets aufmerksame Betreuung

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Professor Dr. Dr. h.c. Reinhard Putz für die jederzeit gewährte Unterstützung.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Dr. Thomas Tischer für seine geduldige Hilfsbereitschaft bedanken.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern und Jean-François Castex, die mich jederzeit tatkräftig unterstützt und motiviert haben.

8 LEBENSLAUF

Persönliche Daten

Name:	Julia Jakob
Geburtsdatum/-ort:	20.12.1978, Aichach
Anschrift:	Hess Straße 88 80798 München
E-mail:	juliajakob@gmx.de
Familienstand:	ledig

Ausbildung

1985-1989	Grundschule Todtenweis
1989-1998	Gymnasium Augsburg, Abitur:1,5
1998-2004	Studium der Humanmedizin an der LMU, München Note:2,0

Praktische Erfahrung

10/2001-03/2002	Co-Assistentin im Präparierkurs Makroskopische Anatomie, bei Prof. Dr. R. Putz Anatomische Anstalt der LMU, München
10/2003-02/2004	Innere Medizin, Privatstation, Med. Poliklinik Innenstadt München
02/2004-05/2004	Chirurgie, G.F.Jooste Hospital, Kapstadt, Südafrika
06/2004-09/2004	Psychiatrie, Station C3, Psychiatrische Klinik der LMU, München
seit 01/2005	Assistenzärztin der Inneren Medizin Amper Klinikum, Dachau

München, September 2006

Mein ausdrücklicher Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Stefan Milz für die Überlassung des Themas, die Einführung in die wissenschaftliche Arbeit sowie für die geduldige und stets aufmerksame Betreuung

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Professor Dr. Dr. h.c. Reinhard Putz für die jederzeit gewährte Unterstützung.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Dr. Thomas Tischer für seine geduldige Hilfsbereitschaft bedanken.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern und Jean-François Castex, die mich jederzeit tatkräftig unterstützt und motiviert haben.