

Aus dem Institut für Pathologie
der Universität Würzburg
Vorstand: Professor Dr. med. H.K. Müller-Hermelink

**„Semi quantitative Bestimmung der Expression des
fetalen Acetylcholinrezeptors
im Musculus supraspinatus und Musculus deltoideus
bei Rotatorenmanschettensyndrom“**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg
vorgelegt von
Carolin Niethammer
aus Mühlacker

Würzburg, Juni 2006

Referent: Prof. Dr. med. A. Marx
Koreferent: Priv.-Doz. Dr. Dr. med. M. Fein
Dekan: Prof. Dr. med. G. Ertl

Tag der mündlichen Prüfung: 31.10.2006

Die Promovendin ist Ärztin.

In memoriam Dr. med. Alfred Balzer.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1.	Erkrankungen der Rotatorenmanschette.....	2
1.2.	Muskelfasertypen	8
1.3.	Acetylcholinrezeptor	9
1.4.	Untersuchte Muskeln der Rotatorenmanschette	11
2.	Ziel der Arbeit.....	13
3.	Material und Methoden.....	14
3.1.	Ausgangsmaterial.....	14
3.2.	Verwendete Primer.....	14
3.3.	Gewinnung der zu untersuchenden RNA	14
3.4.	Gewinnung der zu untersuchenden DNA	15
3.5.	Semiquantitative Bestimmung der mRNA der Acetylcholinrezeptor α - und γ - Untereinheit	16
3.5.1.	PCR.....	16
3.5.2.	Quantifizierung amplifizierter cDNA.....	17
4.	Ergebnisse	20
4.1.	Quantifizierung der mRNA Expression der Alpha- und Gamma- Untereinheit des fetalen Acetylcholinrezeptors	20
4.2.	Geschlechts- und Altersunabhängigkeit der Expression des fetalen AchR in den untersuchten Muskelproben.....	23
4.3.	Vergleich des Gamma/Alpha-AchR Expressionsstatus mit der klinischen Diagnose	30
5.	Diskussion.....	42
6.	Zusammenfassung.....	47
7.	Literaturverzeichnis	48
8.	Anhang.....	55

Lebenslauf

Danksagung

1. Einleitung

Der nicotinerge Acetylcholinrezeptor (AChR) der menschlichen Skelettmuskulatur ist ein pentamerer Ionenkanal, bestehend aus vier verschiedenen Untereinheiten [Changeux et al 1992]. Der nicotinerge Acetylcholinrezeptor kontrolliert die elektrische Signalweiterleitung zwischen Nerv und Muskelzelle, durch öffnen, bzw. schließen einer Membran-spanning Pore. Der Ionenkanal besteht aus zwei Ringen, jeweils bestehend aus alpha-helices (innere Ring bestehend aus 5 alpha-helices, der äußere Ring bestehend aus 15 alpha-helices) [Unwin et al 2003, Tovoshima et Unwin 2005]. Während der intrauterinen Reifung verändert sich die Struktur des Ionenkanals, speziell kommt es intrauterin zu einem allmählichen Austausch des fetalen gegen den adulten Acetylcholinrezeptor. Der adulte Typ ersetzt in den motorischen Endplatten der innervierten Skelettmuskulatur des Erwachsenen komplett den fetalen Typ. Es kommt zu einem Austausch einer Proteinkette und somit zu einer Strukturänderung des Ionenkanals. Dies wurde bereits in zahlreichen Studien gezeigt [Mishina et al 1986, Witzemann et al 1987,1989, Takai et al 1995]. Im adulten differenzierten Zellen kommt dieser fetale Rezeptortyp nur noch in Myoidzellen des Thymus [Marx et al 1989, Hara et al 1993] und in einigen extraoculären Muskelfasern [Horton et al 1993, Kaminski et al 1996, MacLennan et al 1997] vor. Der fetale Rezeptortyp wurde beim Menschen jedoch auch in denervierten Muskelzelle gefunden [MacLennan et al 1997, Gattenlöhner et al 1998, 1999], und kommt dementsprechend zum Beispiel bei der Amyotrophen Lateral-Sklerose und der diabetischen Neuropathie vor. Interessanterweise kommt es jedoch nur in Muskelfasern des Typs 1 zu einem Wiederauftreten der fetalen Rezeptoren [Gattenlöhner et al 2002].

Eine Re-Expression von fetalen Acetylcholinrezeptoren konnte auch unter experimentellen Bedingung in denervierten Muskelzellen bei Ratten nachgewiesen werden [Witzemann et al 1989].

Das menschliche Schultergelenk (Articulatio humeri) ist gekennzeichnet durch einen hohen Grad an Bewegungsfreiheit, welche durch die geringe knöcherne Fixierung auf der einen Seite und die hauptsächlich muskuläre Schienung des

Gelenkes auf der anderen Seite gewonnen wird. Die fast ausschließliche Muskelfixierung ist jedoch anfällig für Traumen und für eine Muskeldysbalance, die durch falsches Training oder Fehlbelastung einzelner Muskelgruppen entstehen können.

Die Innervation der Muskeln des Schultergürtels übernehmen eine Reihe von Nerven, die ihren Ursprung im Plexus brachialis haben. Schäden einzelner Nerven oder des Plexusgeflechtes führen zu Atrophie und Dysbalancen der Muskelgruppen. Eine frühe Degeneration dieses Gelenkes ist die Folge [Gansen H.-K., Irlenbusch U 2002, Poyhia Th 2005].

Der Musculus deltoideus wird anatomisch nicht zur Rotatorenmanschette gezählt, spielt jedoch eine wichtige Rolle bei der Stabilisierung des Schultergelenkes und hat eine bedeutende Funktion bei den Bewegungsabläufen des freien Gelenkes [Jansen T, Tharus C, Oestern HJ 2001].

Der Musculus supraspinatus, der bei Anspannung das Schultergelenk nach Außen rotiert, wird als Vertreter der Rotatorenmanschette untersucht.

In der hier vorgelegten Arbeit wurden wegen ihrer besonderen Bedeutung für die Funktion des Schultergelenks hauptsächlich der Musculus deltoideus und der Musculus supraspinatus auf die Existenz und das quantitative Verhältnis zwischen den fetalen und den adulten Acetylcholinrezeptor untersucht, um auf diese Weise einen objektiven biochemischen Parameter für den Grad der Denervierung zu bestimmen.

1.1. Erkrankungen der Rotatorenmanschette

Durch die starke Beanspruchung des Schultergelenkes kommt es im mittleren bis höheren Lebensalter zu Degenerationen in diesem Gelenk. Dies geht häufig mit einer Atrophie der entsprechenden Muskeln einher [Bredella 1999, Meyer DC 2005]. Ausgangspunkt der Degenerationen sind nach heutiger Vorstellung meist mechanische Irritationen der Sehnen und der Bursae subtendinea (subacromialis, subdeltoidea, m. infraspinati, m. subscapularis). Ausdruck einer Reizung durch Einengung, Stoffwechselstörungen oder Fehlbelastungen kön-

nen Einlagerung von Kalk in den Sehnen, Entzündungen und Knochenreaktionen im Sinne von Osteophyten im Acromioclaviculargelenk sein.

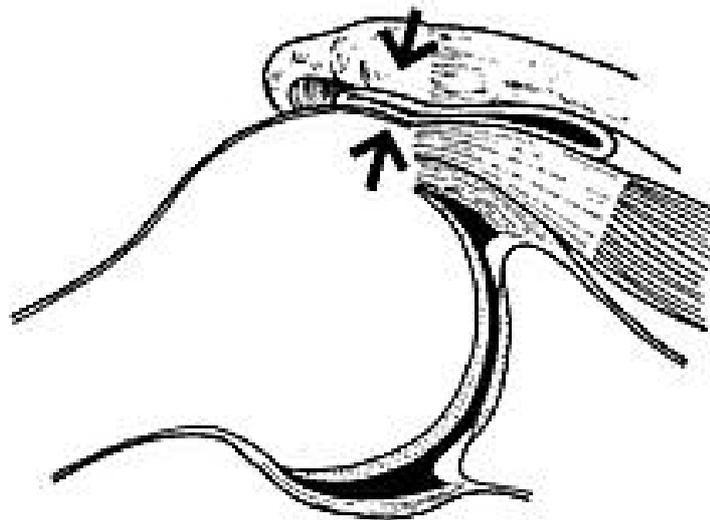
Degenerative Erkrankungen im subacromialen Raum werden als Periarthropathia humeroscapularis (PHS) oder als Subacromialsyndrom bezeichnet. Je nach Lokalisation, Schmerzintensität und Schmerzlösbarkeit werden die folgenden Erkrankungen unterschieden [Meislin RJ et al 2005; Gohlke F 2000, Budoff JE 2003]:

a. Rotatorensyndrom (degenerativ)

Bei diesem Krankheitsbild kommt es zunächst zu einem Reizzustand in den Sehnen der Rotatorenmanschette und in der Bursa subacromialis, welche noch reversibel ist. Klinisch ist ein subacromialer, lokaler Spontan- sowie Druckschmerz zu erheben. Der Patient gibt ein charakteristisches Schmerzempfinden in einem Abduktionswinkel von 60° bis 130° an, sonst ist jedoch eine schmerzlose Bewegung möglich. Dieses Phänomen wird „painful arc“ genannt. Erklärbar ist dies durch die mechanische Einengung der Rotatorenmanschette und der Bursa während des Bewegungsablaufs. Diese Kontaktphänomene werden als „Impingement“ bezeichnet (siehe dazu Abbildung Nr. 1).

Abbildung Nr. 1: Schematische Darstellung des Schultergelenks, die Pfeile weisen auf die Enge zwischen dem Schulterdach (Acromion) und dem Tuberculum majus des Humerus, in der es zu einem Kontaktphänomen und zu einer mechanischen Enge der Rotatorenmanschette (Musculus supraspinatus-Sehne und der Bursa subacromialis) kommt. Diese nennt man Impingement.

Entnommen bei Dr. Rick Allen „shoulder injuries-Part 2- injury, treatment and prevention“; July 1999, Abbildung Copyright by Dr. Rick Allen (1997-2005)



b. Arthrose des Acromio-Clavicular-Gelenkes (degenerativ)

Die Arthrose des Schultergelenkes ist eine häufige Erkrankung. Sie wird durch Traumen und Fehlbelastung hervorgerufen und hat eine Bewegungseinschränkung mit oder ohne Schmerzempfindung zur Folge. Bei Traumen kann es zu Verletzungen der Gelenkflächen kommen, die dann unter Stufenbildung verheilen. Die vermehrte Reibung im Gelenk führt zu einem schnelleren Verschleiss an den Ge-

lenkflächen und zu Knorpelschäden (siehe Chondromalazie). Durch die Fehlbelastung im Schultergelenk, durch vermehrten oder verringerten Zug eines Muskels oder einer Muskelgruppe, kann es zu einem Fehlstand im Gelenk oder zu einem knöchernen Anbau der beteiligten Knochen kommen. Die Arthrose im Acromio-Clavicular-Gelenk ist eine Erkrankung des älteren Menschen.

c. Bursitis subacromialis (entzündlich)

Dieses Krankheitsbild zeichnet sich wiederum durch eine schmerzhafte Bewegungseinschränkung im Schultergelenk aus. Die Schleimbeutel ermöglichen normalerweise eine bessere Verschieblichkeit zwischen Knochen und Weichgewebe. Der Hohlraum ist mit synovialer Flüssigkeit gefüllt. Bei Reizzuständen kommt es zur Einschränkung dieser Gleitfunktion. Mechanische Reizung kann auf degenerative Gelenksveränderungen oder traumatische Veränderungen zurückzuführen sein, bei entzündlicher Genese sind rheumatische Erkrankungen, Gicht oder Tuberkulose denkbar.

d. Chondromalazie (degenerativ)

Da der Knorpel über die synoviale Flüssigkeit ernährt wird und keine eigenen Blutgefäße besitzt kommt es bei Traumen oder durch degenerative Prozesse zu einer eingeschränkten Heilung der Knorpelschicht. Bei Abnahme der Nährstoffe und der Schmierung des Schultergelenkes durch entzündliche oder degenerative Prozesse ist eine Schädigung des Knorpels im Alter häufig anzutreffen. Bei Fehlbelastung, bedingt durch Traumen oder muskuläre Dysbalancen werden zur Stabilisierung des Gelenkes, sogenannte Osteophyten ausgebildet, die wiederum eine Einschränkung der Beweglichkeit und eine weiterführende fixierte Fehlbelastung des Schultergelenkes nach sich ziehen.

e. Periarthropathia humeroscapularis calcificans (degenerativ)

Diese Erkrankung ist Ausdruck einer gestörten Stoffwechselsituation in den betroffenen Muskelgruppen. Es kommt zu Kalkablagerungen in den oder nahe der Sehnen der Rotatorenmanschette, dicht am Tuberculum majus des Humerus. Solche Kalkdepots können lange keine Beschwerden auslösen, wenn es dann jedoch zu einem Einbrechen des Kalkes in die Bursa subacromialis kommt, entsteht ein akuter Reizzustand. Eine Rückbildung der Kalkdepots ist möglich, meistens müssen Kalkansammlungen jedoch operativ entfernt werden.

f. Periarthropathia humeroscapularis adhaesiva (entzündlich)

Durch wiederkehrende Entzündungen innerhalb des Schultergelenkes kann es zu einem proliferativen Prozess kommen, der zu Verklebungen im Gleitlager zwischen Tuberculum majus humeri und dem Acromioclaviculargelenk führt. Es kommt dann zu einer Schulterfibrose. Die Gelenkkapsel schrumpft und durch die oben genannten Verklebungen kommt es zu einem Humeruskopf-Hochstand. Die Abduktion und Rotation werden eingeschränkt, es kommt zur Schultersteife. Diese kann lange durch die hohe Beweglichkeit des Schultergürtels kompensiert werden.

Die Rotatorenmanschettenmuskulatur atrophiert als Folge der eingeschränkten Beweglichkeit und somit des eingeschränkten Gebrauchs der Muskulatur sehr rasch.

g. Periarthropathia humeroscapularis destructiva (degenerativ)

Dieses Krankheitsbild steht oft am Ende pathologischer Veränderungen im Schultergelenk und ist daher eine Erkrankung des älteren Menschen (ab dem 60. Lebensjahr). Es kommt hierbei zu Einrissen, selten akuter traumatischer Ursache, häufig durch schleichende Degenerationen der Rotatorenmanschette. Ohne eine Vorschädigung der Schulter im Sinne der oben genannten Erkrankungen oder Trau-

men ist eine Ruptur der Rotatorenmanschette nur sehr selten zu beobachten.

h. Bizepssehnenyndrom (entzündlich oder degenerativ)

Der Musculus biceps gehört nicht zur eigentlichen Rotatorenmanschette, der anatomische Verlauf der langen Bizepssehne erklärt jedoch den engen Zusammenhang und die mögliche Symptomgleichheit zwischen den Rotatorenmanschettenschäden und Läsionen der Bizepssehne. Die Enge im Knochenkanal der Sehne kann zu mechanischen Irritationen führen. Auch hier sind spontane Rupturen ohne Vorschäden sehr selten.

i. Traumen:

Wie schon erwähnt ist das Schultergelenk wegen der fast ausschließlich muskulären Führung sehr anfällig für Verletzungen.

Bei Zerrungen und starken Dehnungen im Schulterbereich kann es zu Schäden der versorgenden Nerven, dem sogenannten Plexus brachialis, sowie zu allen daraus entspringenden Nerven kommen. Auch Kompression unterschiedlicher Genese, zum Beispiel bei Schulterluxationen oder Tumoren, können zu Nervenschäden führen. Rezidivierende Schulterluxationen und Instabilität des Gelenkes durch Sprengung des Acromioclaviculargelenkes haben eine schnellere Degeneration und entzündliche Veränderungen im Gelenk zur Folge.

Unter der Bezeichnung der nervalen Schädigung handelte es sich in der vorliegenden Arbeit um frische Traumen, die weniger als 24 Stunden vor der Operation und somit vor der Biopsiegewinnung stattgefunden hatten.

Da es in dieser Zeit noch nicht zu Veränderungen im Sinne von Atrophie oder Degeneration kommt, ist diese Gruppe als Negativkontrolle zu werten.

Die Therapie der Periarthropathia humeroscapularis (PHS) erfolgt in frühen Stadien der Erkrankung konservativ (Analgetika, Antiphlogistika, Schonung), krankengymnastisch und durch physikalische Therapie (Elektro-, Thermo-, Ultraschalltherapie). Bei großen Kalkdepots, Verklebungen, Einengungen oder Rupturen ist die letzte Konsequenz die Operation.

Die in dieser Arbeit verwendeten Muskelbiopsate stammen aus Rotatorenmanschettenoperationen der orthopädischen Klinik der Universität Würzburg.

1.2. Muskelfasertypen

Die Muskulatur des Menschen entsteht durch omnipotente Mesenchymzellen, durch myogene Disposition unreifer Fasern differenzieren sich die unreifen Muskelfasern zu Typ 1 - bzw. Typ 2 – Muskelfasern [Johnson et al 1973; Round et al 1980, Meyer DC 2005].

Bei Denervation überleben im untergegangenen Muskelgewebe sogenannte Satellitenzellen, welche neue Muskelfasern generieren. Durch einsprossende Neuronen, bzw. Ausläufer des proximalen, intakten Neurons, das sogenannte „Sprouting“, können diese neuen Areale erneut innerviert werden [Herrmann et al. 1987, Edström and Kugelberg 1986].

Die Fasertypzusammensetzung eines Muskels ist abhängig von:

- Belastung, bzw. Belastungsveränderungen
- Sauerstoffangebot
- Sexualhormonen
- Gangliosidapplikationen
- Alter: Im Alter kommt es zur Abnahme der schnellen Typ 2 - Muskelfasern

Bei chronisch degenerativen Veränderungen wurde eine Verkleinerung des Faserdurchmessers und eine relative Verschiebung der Häufigkeit der Typ 2 Fasern und der Typ 1-Fasern beobachtet [Ganssen and Irlenbusch 2002].

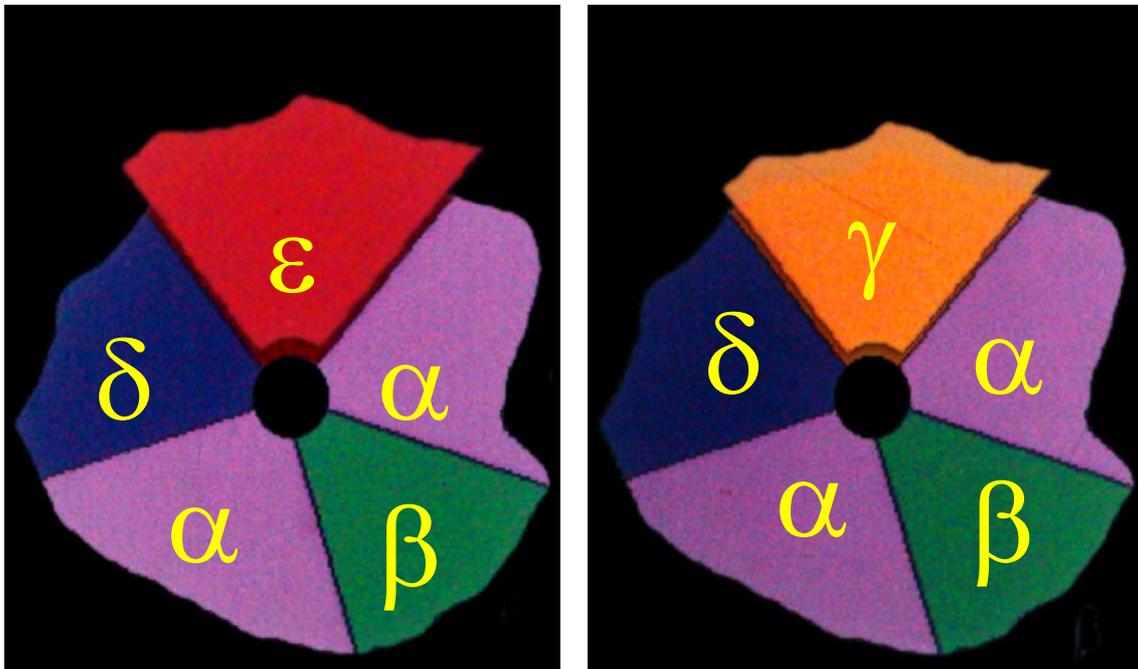
Der Muskelfasertyp 1, auch langsame rote Fasern genannt, weist einen Durchmesser von circa 50 μm , einen hohen Anteil an Myoglobin, hohe Aktivität der ATPase und viele cristareiche Mitochondrien auf. Die Energiegewinnung erfolgt dabei über oxidative Phosphorylierung, bei der hauptsächlich Fettsäuren als Substrat dienen. Somit sind diese Fasern für langdauernde, kontraktile Haltearbeit geeignet. Sie weisen eine niedrige Kanal-Leitfähigkeit und eine lange Kanalöffnungszeit auf.

Die Typ2 - Muskelfasern dienen der schnellen Kontraktur und haben einen höheren Durchmesser. Diese Gruppe der Muskelfasern wird in weitere Subgruppen unterteilt. Diese Muskelfasern haben eine hohe Kanal-Leitfähigkeit, sowie eine schnelle Kanalöffnungszeit [Schuetze and Role 1987, Brehm and Handerson 1988].

1.3. Acetylcholinrezeptor

Der nicotinerge Acetylcholinrezeptor der motorischen Endplatte in Muskelfasern der Skelettmuskulatur wird aus fünf Ketten gebildet. Der fetale Typ besteht aus zwei α -, einer β -, einer γ - und einer δ -Untereinheit. Während der Reifung wird die γ -Kette durch eine ε -Kette ersetzt, so dass es zu einer Strukturänderung des Rezeptors vom fetalen $\alpha^2\beta\gamma\delta$ -Rezeptor zum adulten $\alpha^2\beta\delta\varepsilon$ -Rezeptor kommt.

Abbildung Nr. 2: Schematische Darstellung der Acetylcholinrezeptoren, dargestellt ist der unterschiedliche Aufbau der zwei Acetylcholinrezeptortypen, bedingt durch unterschiedliche Unterketten (ϵ versus γ).



Adulter Acetylcholinrezeptor

Fetaler Acetylcholinrezeptor

Bei Tieren konnte nach experimenteller Denervation eine Atrophie, sowie eine Veränderung der Acetylcholinrezeptorstruktur im Sinne eines Austausches der ϵ - Kette gegen die γ - Kette nachgewiesen werden. Der nach Denervierung exprimierte Rezeptor entspricht dem fetalen Acetylcholinrezeptor ($\alpha^2\beta\gamma\delta$). Im Tierexperiment kann der fetale Acetylcholinrezeptor schon 24 – 48 h nach der Denervierung der Muskelzellen nachgewiesen werden [Goldman et al 1988]. Untersucht man quantitativ das Verhältnis zwischen α - und γ - Untereinheiten auf Protein- oder mRNA-Ebene findet man bei einer Ausprägung des adulten Acetylcholinrezeptors kaum γ - Untereinheiten bzw. γ - mRNA. Ist jedoch der fetale Typ ausgebildet, wie zum Beispiel bei Denervierung, verschiebt sich das Verhältnis zu Gunsten der γ - Untereinheit.

In dieser Arbeit wurde das quantitative Verhältnis der beiden Untereinheiten, α und γ , durch Isolierung der entsprechenden RNA und einer RT-PCR untersucht um Rückschlüsse auf den exprimierten Rezeptor zu ziehen und dadurch Hinweise auf das Vorliegen einer normalen Muskelinnervation oder einer Denervierung zu erhalten.

1.4. Untersuchte Muskeln der Rotatorenmanschette

Abbildung Nr. 3: Schematische anatomische Darstellung der Rotatorenmanschette mit wichtigen Strukturen des Schultergelenks, sowie Ansatz und Ursprung der beteiligten Muskeln

Abbildung Copyright by Charles Foster (1997-2005)

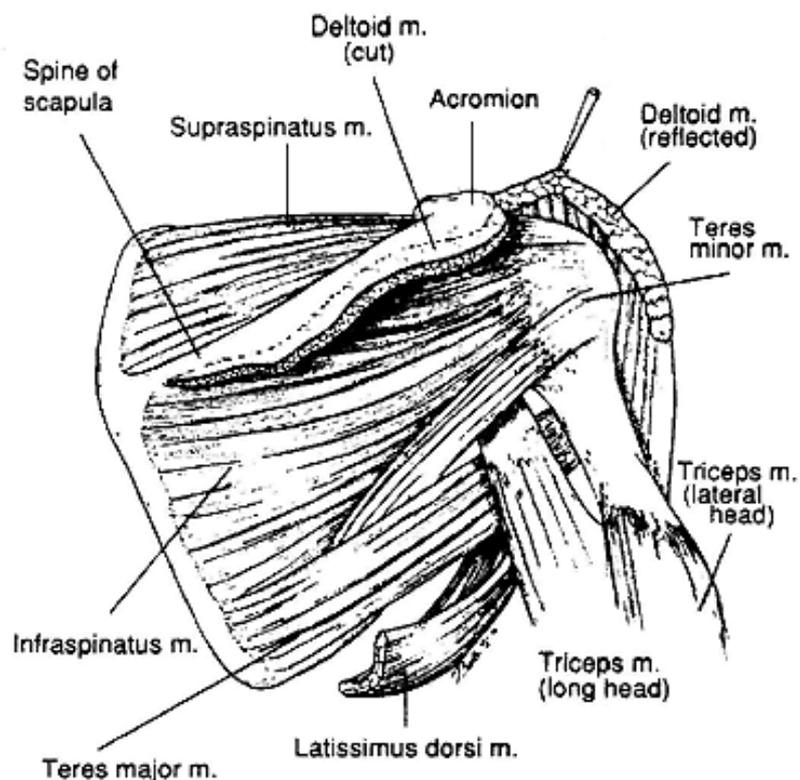


Tabelle Nr. 1: Muskeln der Rotatorenmanschette mit Ansatz, Ursprung, Funktion und Innervation der unterschiedlichen Muskeln

	Musculus supraspinatus	Musculus infraspinatus	Musculus teres minor	Musculus subscapularis
Ursprung	Fossa supraspinata, Fascia supraspinata	Fossa infraspinata, Fascia infraspinata	Margo lateralis der Scapula	Fossa Subscapularis
Ansatz	Tuberculum majus, Gelenkkapsel	Tuberculum majus, Gelenkkapsel	Tuberculum majus	Tuberculum minus, Gelenkkapsel
Innervation	Nervus suprascapularis	Nervus supraspinatus	Nervus axillaris	Nervus subscapularis
Funktion	Abduktion	Aussenrotation	Aussenrotation, Adduktion	Innenrotation

Weitere Muskeln, die nicht zur Rotatorenmanschette gezählt werden:

1. Musculus deltoideus
2. Musculus teres major
3. Musculus latissimus dorsi
4. Musculus vastus medialis

2. Ziel der Arbeit

Im Rahmen der hier dargestellten Untersuchungen sollte die Expression des fetalen Acetylcholinrezeptortyps in Muskelbiopsien bei Patienten mit Rotatorsehnsyndrom semiquantitativ bestimmt werden. Basierend auf eigenen Vorarbeiten (Gattenlöhner et al., Brain 2003), in denen gezeigt werden konnte, dass die Überexpression des fetalen AchR mit einer zugrunde liegenden neurogenen Schädigung assoziiert ist, sollte insbesondere untersucht werden, ob das Ausmaß der Überexpression des fetalen AchR bei Erkrankungen der Rotatorenmanschette mit dem prä- und postoperativen Funktionsverlust, speziell der in einem Teil der Fälle auftretenden protrahierten postoperativen Refunktionalisierung der Schultermuskulatur, korreliert.

3. Material und Methoden

3.1. Ausgangsmaterial

Es wurden frische Muskelbiopsate von 153 Patienten untersucht, die während Routineoperationen der Rotatorenmanschette gewonnen wurden. Die Biopsate wurden spätestens 15 Minuten nach der Gewinnung in Tissue-Teq eingebettet und bei -80°C aufbewahrt.

Durch standardisierte Operationen und gleiche Operateure wurde die Gleichheit der Vorgehensweise und der Muskelbiopsate sichergestellt.

3.2. Verwendete Primer

Die verwendeten Primer für die Untereinheiten des Acetylcholinrezeptors in der RT-PCR waren

α - AchR forward Primer: 5`-AAG CTA CTG TGA GAT CAT CGT-3`

α - AchR reverse Primer: 5`-TGA CGA AGT GGT AGG TGA TGT-3`

γ - AchR forward Primer: 5`-ATC TCT GTC ACC TAC TTC CCC-3`

γ - AchR reverse Primer: 5`-AAG TGG ATG AGG ATG GCG ACA-3`

MWG Biotech [Gattenlöhner J Mol Diagn 1999]

3.3. Gewinnung der zu untersuchenden RNA

a. Schneiden der Biopsate:

Die frischen Muskelbiopsate wurden, nachdem sie in Tissue-Teq eingebettet wurden, bei -80°C tiefgefroren und aufbewahrt. Um Genmaterial zu gewinnen und RNA beziehungsweise DNA aus den Zellen zu gewinnen, mussten die Proben in einem Kryostaten bei circa -20°C geschnitten werden. Es wurden pro Biopsat circa 150 Schnitte mit einer Dicke von $5\ \mu\text{m}$ gewonnen.

Mit diesen Schnitten wurden die Zellen eröffnet und weiteres Herauslösen und Bearbeiten des intrazellulären Materials ermöglicht.

b. Homogenisieren des Muskelbiopsates:

Die aufgeschnittenen Zellen wurden nun in Mercapto-H₂O gegeben und mit Hilfe einer Insulinspritze wurde durch mehrmaliges Aufziehen des Gemisches größere Gewebestücke zerkleinert und die Zellen geschert. Intrazelluläres Material, z.B. RNA; konnte so in Lösung treten.

c. Fällung der RNA:

Die nun gewonnene Lösung, bestehend aus homogenisiertem Zellmaterial und Mercapto-H₂O, wurde mit Phenol, Chloroform, Natrium-Acetat (2M, pH4,0) vermischt und 20 Minuten bei einer Temperatur von 4°C und 13.000U/min zentrifugiert. Der nun entstandene Überstand wurde erneut mit Phenol, Chloroform und Natrium-Acetat vermischt und wieder zentrifugiert. Der anfallende Überstand wurde mit 1 ml Isopropanol versetzt und nachdem man diese neue Lösung in flüssigen Stickstoff getaucht hatte, wurde erneut 20 Minuten bei einer Temperatur von 4°C und einer Umdrehung von 13.000U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, das entstandene Pellet wurde mit 70%-igem Ethanol gewaschen, indem man 10 Minuten bei 4°C und 13.000U/min erneut zentrifugierte. Nach dem Waschvorgang wurde der Alkohol abgenommen und verworfen. Nachdem man das Pellet getrocknet hat, wurde dies mit 30µl DEPC-H₂O in Lösung gebracht. Wurde das Material nicht gleich weiterverarbeitet, konnte es in dieser Lösung zur Aufbewahrung eingefroren werden.

3.4. Gewinnung der zu untersuchenden DNA

Um das Material mit Hilfe einer PCR weiter zu untersuchen, musste die gewonnene RNA in eine sogenannte Copy-DNA (c-DNA) umgewandelt werden. Dies gelang durch das Enzym Transkriptase.

Im ersten Schritt, dem sogenannten Primer-Anealing, wurde die Lösung mit Oligo-Peptiden und Random-Primer versetzt und 10 Minuten bei 70°C in einem Wasserbad inkubiert, danach sofort auf Eis abgekühlt. Zu dieser Lösung wurden 1-Strangpuffer, DTT (0,1mM), dNTP (jeweils 10mM), Reverse Transkriptase und RNAsin gegeben, vermischt und abzentrifugiert. Umschreibung der RNA auf eine cDNA, also eine DNA ohne Exons, erfolgte mit Hilfe der Substrate und dem Enzym. Die Reaktion lief während 60 Minuten in einem Brutschrank bei 42 °C ab. Um die Reaktion zu stoppen, wurden die Proben 15 Minuten bei 70°C denaturiert.

3.5. Semiquantitative Bestimmung der mRNA der Acetylcholinrezeptor α - und γ - Untereinheit

3.5.1. PCR

Um eine quantitative Aussage zu machen, welche RNA- beziehungsweise cDNA-Abschnitte vorhanden waren, wurde mit Hilfe der PCR bestimmte DNA-Regionen vervielfältigt und somit nachweisbar. In dieser Arbeit interessierte das Vorhandensein von mRNA zweier Acetylcholinrezeptor-Untereinheiten (α und γ). Somit konzentrierte sich die PCR auf die α -Untereinheit und auf die γ -Untereinheit des Acetylcholinrezeptors. Mit Hilfe der bekannten Primer wurden Teile von deren cDNA-Abschnitten amplifiziert.

10 x Puffer, Magnesiumchlorid (25mM), dNTP (2,5mM each), Primer α - forward, Primer α - reverse, Primer γ - forward, Primer γ - reverse, Taq und H²O wurden als PCR-Ansatz zusammen pepitiert.

47 μ l des Ansatzes und 3 μ l der cDNA-Lösung wurden zusammen in die PCR-Maschine gegeben.

Tabelle Nr.2: Tabellarische Darstellung der auf einander folgenden PCR-Zyklen

Zeit des Zyklusabschnittes	Temperatur in °C	Anzahl der Zyklen
3 min	94	1 x
30 sec	94	40 x
30 sec	66	
30 sec	72	
7 min	72	1 x
Forever	4	1 x

3.5.2. Quantifizierung amplifizierter cDNA

Ethidiumbromid-Agarosegel:

Zur Auftrennung der PCR-Produkte wurde 2%-Agarosegel verwendet. 1,6g Agarosepulver (Fa. Roth, Karlsruhe, Deutschland) und 80 ml 0,5% x TBE-Puffer (50mM Tris, 50mM Borat, 1mM Na₂EDTA) wurden vermischt und in einem Ofen kurz aufgeköcht. Anschließend wurden 4 µl 0,01%-Ethidiumbromid als Indikatorsubstanz dazugegeben. Die Gele wurden danach auf geeignete Glasplatten gegossen. Für die Elektrophorese wurden Gelkammern mit 0,5%-TBE-Puffer gefüllt und die PCR-Produkte bei 120V in einem Zeitraum von 15 Minuten aufgetrennt.

Die PCR-Produkte wiesen eine Größe von:

AChR- α unprotected	334 bp,
AChR- α protected	244 bp,
AChR- γ unprotected	306 bp,
AChR- γ protected	254 bp, auf.

Es wurde auf jede Elektrophorese eine Positiv-Kontrolle mitpeptitiert, so dass bei der Extinktionsmessung ein Standardfeld festgelegt werden konnte.

Die Ergebnisse wurden mit Hilfe eines Videoprinters dokumentiert.

Scannen von Agarosegelen

Die gleichzeitige Amplifikation und weitere Bearbeitung der RNA der alpha- und gamma-Untereinheit des Acetylcholinrezeptors unter gleichen Bedingungen erlaubte die semiquantitative Bestimmung in Bezug auf die mitgeführte Positivkontrolle (interner Standard) und im gleichen Schritt die Bestimmung der Relation der beiden Untereinheiten α und γ zu einander. Hierfür wurden die photodokumentierten Ethidiumbromid-Gele mit den RT-PCR-Produkten über den Agfa Scanner Arcus II (Duttenhofer, Würzburg) digitalisiert.

Die digitalisierten Bilder der Ethidiumbromid-Gele konnte mit Hilfe der „National Institute of Health software“ (FMS Software, Würzburg, Deutschland) bearbeitet werden. Durch Schaffung von Standardfeldern wurde die Extinktion der einzelnen Banden gemessen und errechnet. Die gemessenen Intensitäten der alpha-, bzw. gamma - Banden wurden zu einander ins Verhältnis gesetzt, dies ergab die alpha/gamma-, bzw. die gamma/alpha-Ratio.

Angewandte statistische Verfahren

Die statistische Auswertung der Ergebnisse wurde mit dem Statistikprogramm SPSS Version 12.0 deutsch 2003 von SPSS Inc. durchgeführt.

Die verwendeten statistischen Verfahren waren auf der einen Seite die deskriptive Statistik, hier wurde mit Hilfe von Boxplots die ermittelten Werte grafisch aufbereitet. Diese Boxplots enthalten neben dem Median, dieser Wert teilt die Werte einer bestimmten Gruppe in zwei gleichgrosse Gruppenteile und hat den Vorteil auch in Gruppen angewendet werden zu können in denen man nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden kann, auch Standardabweichung, Standardfehler und Mittelwert. Die Standardabweichung informiert über Streuung bzw. Verteilung der Werte in der betrachteten Stichprobe. Ein Maß für die Grösse und Stabilität der zugrundeliegen-

den Population ist der Standardfehler, dieser wird um so kleiner, je grösser die Population und je kleiner die Werte-Schwankung innerhalb der betrachteten Gruppe ist. Der Mittelwert zeigt ein Durchschnittswert eines bestimmten Gruppenteils an.

Auf der anderen Seite wurde eine inferenz-statistische Methode angewendet. Die in dieser Arbeit gemachten Aussagen beruhen auf dem Messverfahren des „T-Testes“ (= Mittelwertsvergleichstest). Da es im Bereich der unterschiedlichen Krankheitsbilder auch zu Berechnung von unterschiedlichen Mittelwerte kommt, kommt es durch multiple T-Tests zu einer alpha-Inflation bedingt durch den alpha-Fehler, und somit zu ungenauen Aussagen. Um dies vorzubeugen wurde der „Post-hoc-Test“ nach Bonferroni angewandt.

4. Ergebnisse

4.1. Quantifizierung der mRNA Expression der Alpha- und Gamma- Untereinheit des fetalen Acetylcholinrezeptors

Aus 312 Muskelbiopsaten von 153 Patienten wurde die mRNA isoliert und nach reverser Transkription simultan die alpha- und die gamma- Untereinheit des fetalen AchR mittels RT-PCR amplifiziert.

Mittels Gelelektrophorese wurden die mit Ethidium-Bromid markierten PCR-Produkte unter UV-Licht sichtbar. Die kürzeren Alpha- Ketten liefen im elektrischen Feld weiter als die längeren gamma - Ketten, sodass die Produkte gut von einander abgrenzbar waren.

Eine Intensitätsmessung durch Standardfelder ermöglichte eine quantitative Aussage über die unterschiedlichen PCR-Produkte.

Ein Beispiel für ein Agarosegel mit negativen und positiven Proben ist in der folgenden Abbildung 4 dargestellt.:

Abbildung Nr. 4: Ein exemplarisches Ethidiumbromid-Agarosegel, Markiert wurden die zu untersuchenden und mittels Ethidiumbromid sichtbar gemachten Banden. In der neunten Laufspur wird eine positive Knotrollprobe dargestellt, in der zehnten Laufspur wird die negative Kontrollprobe gezeigt.

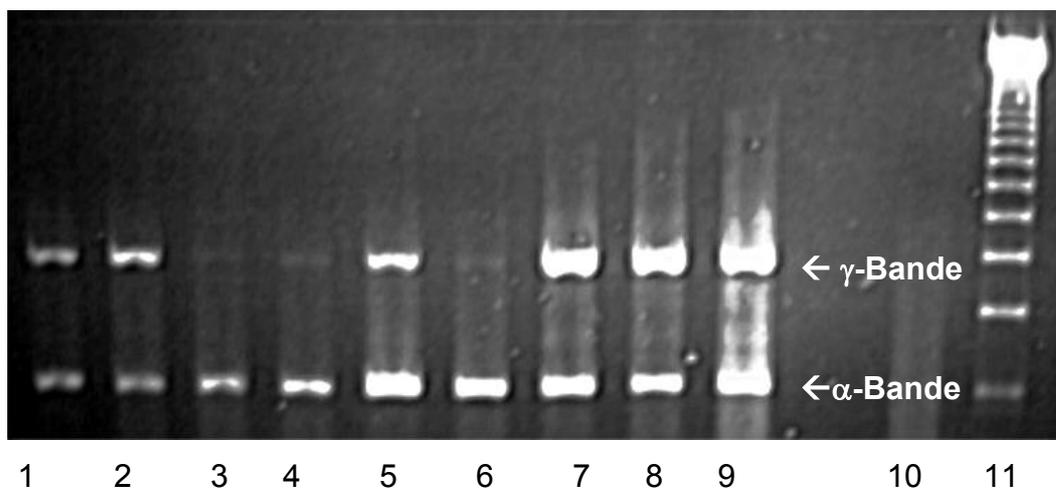


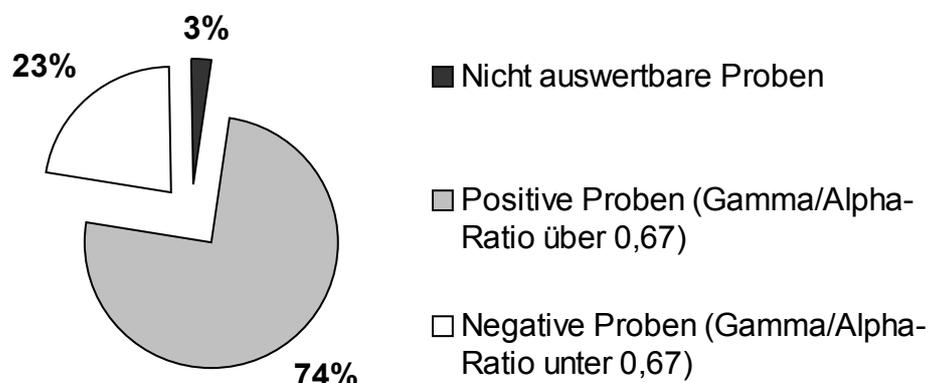
Tabelle Nr. 3: Semi-quantitative Auswertung der in Abbildung Nr. 4 zur Darstellung kommenden Banden. Hier werden Proben-Nummern, Spurnummern und die errechneten gamma/alpha—Verhältniszahlen (Ratios) dargestellt. Die verwendete positive Kontrollprobe zeigt eine gamma/alpha-Ratio von über eins und gilt somit als pathologisch.

Spur-Nummer	Proben-E-Nummer	gamma/alpha-Ratios
1	7890/01, Probe 1	1,15
2	7890/01, Probe 2	1,59
3	8187/01, Probe 1	0,37
4	8187/01, Probe 2	0,36
5	8329/01, Probe 1	0,61
6	8329/01, Probe 2	0,29
7	8462/01, Probe 1	1,14
8	8462/01, Probe 2	1,32
9	5435/01 (= positiv Kontrolle)	1,04
10	Negativ Kontrolle	Negativ Kontrolle
11	Marker	Marker

74 % aller untersuchten Patienten wiesen pathologische Werte in Bezug auf das Vorhandensein der gamma-Untereinheit auf, bei diesen Patienten konnte eine gamma/alpha-Ratio von über 0,67 erhoben werden.

Bei 36 Patienten konnten Werte der gamma/alpha-Ratio unter 0,67 gemessen werden, nach den bisherigen Studien lag somit keine neurogene Schädigung der Muskeln vor, dies erspricht ca. 23 % der untersuchten Patienten (siehe Abbildung Nr. 5).

Abbildung Nr. 5: Zusammenfassung der semiquantitativen Bestimmung der alpha- und gamma-mRNA des Acetylcholinrezeptors in den hier untersuchten Proben; n=153. Positive Proben entsprechen einem pathologischen Befund von einer gamma/alpha-ratio größer 0,67, Negative Proben entsprechen einer nicht pathologischen gamma/alpha-ratio (unter 0,67).

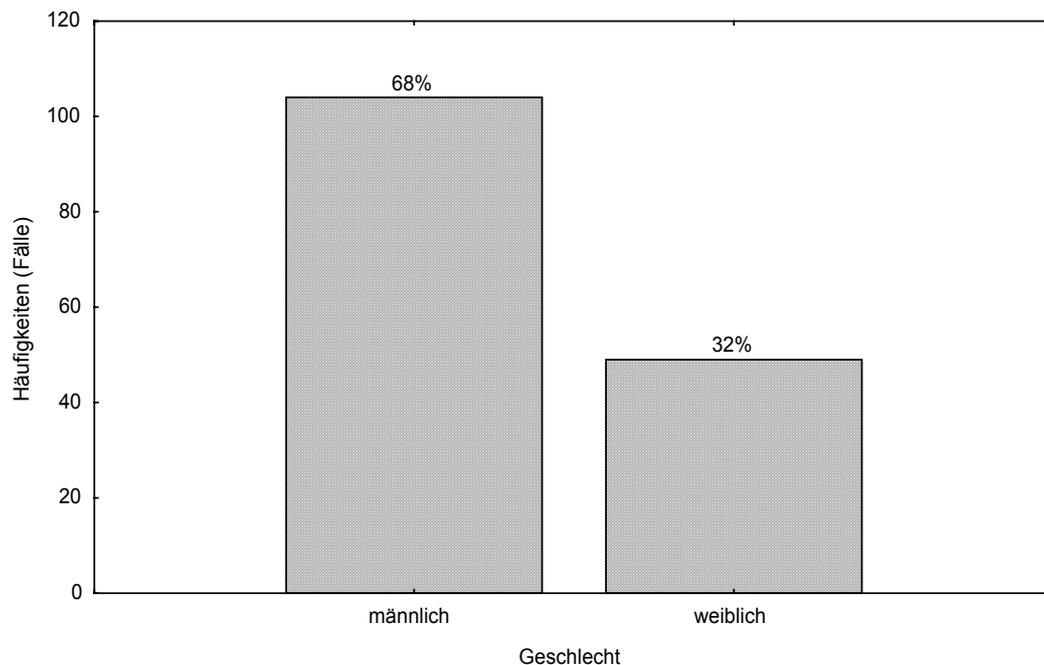


4.2. Geschlechts- und Altersunabhängigkeit der Expression des fetalen AchR in den untersuchten Muskelproben

Zum Ausschluss einer möglichen Krankheits-unabhängigen Variabilität der Expression des fetalen AchR wurde eine vergleichende Statistik in Bezug auf das Geschlecht bzw. Alter der untersuchten Patienten angefertigt.

In Abbildung 6 wird gezeigt, dass etwa 2 Drittel der untersuchten Patienten Männer und 1 Drittel Frauen waren.

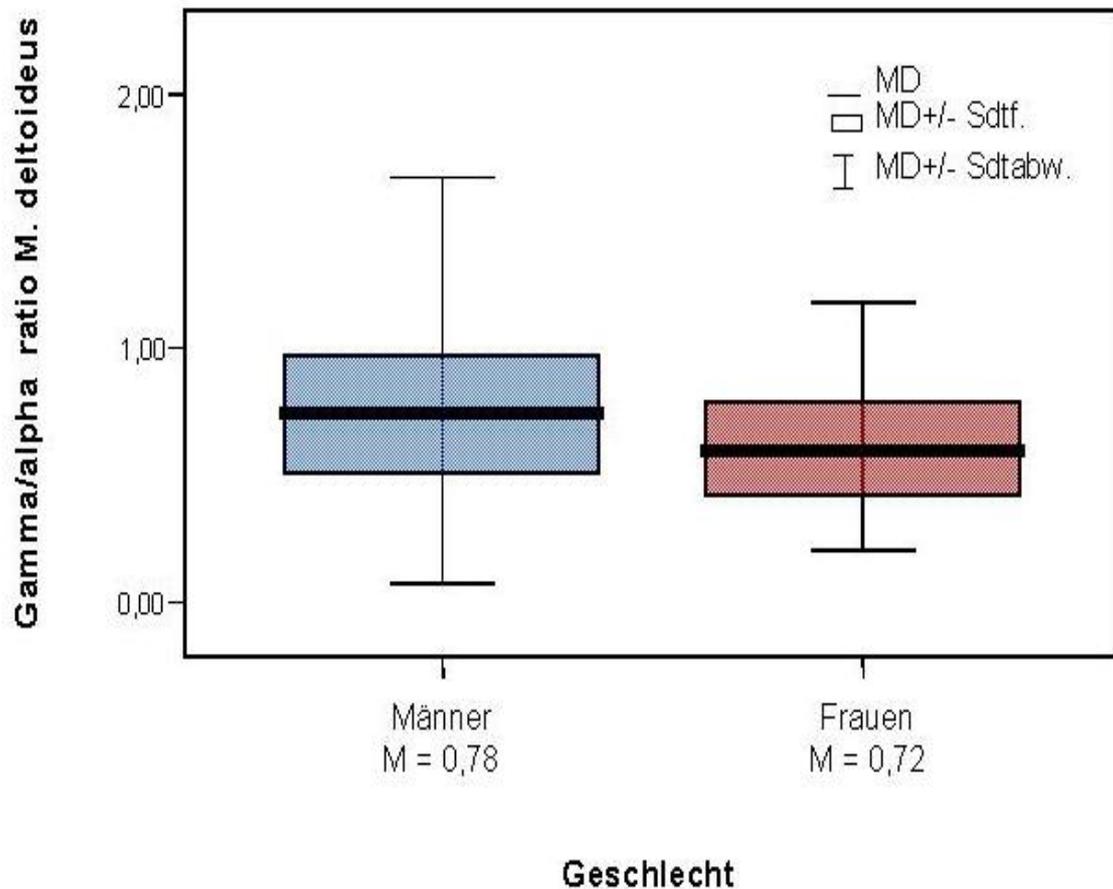
Abbildung Nr. 6: Geschlechtsverteilung (n = 153), aller in der vorgelegten Arbeit untersuchten Patienten mit Rotatorenmanschettensyndrom.



In Abbildung Nr. 7 und Nr. 8 ist zu erkennen, dass die Mittelwerte der Acetylcholinrezeptor Expression sowohl in den Biopsaten des Musculus supraspinatus als auch in den Biopsaten des Musculus deltoideus bei den männlichen wie auch bei den weiblichen Patienten in ähnlichen Bereichen lagen.

Abbildung Nr. 7 : Darstellung der Häufigkeitsverteilung der gamma/alpha-ratio in den untersuchten Proben des **Musculus deltoideus** in **Abhängigkeit des Geschlechts** der Patienten (n=153);

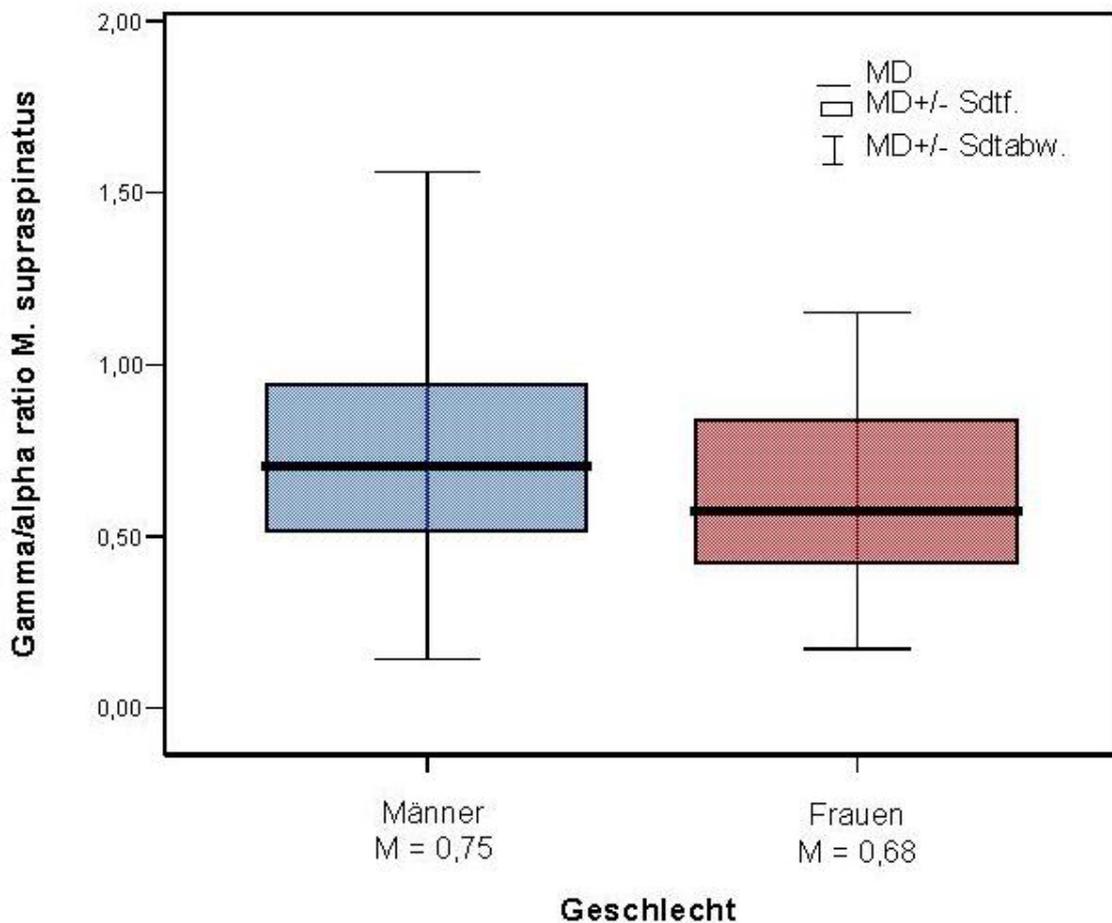
MD = Median; Sdtf. = Standardfehler; Sdtabw = Standardabweichung; M= Mittelwert.



In der Häufigkeitsverteilung der gamma/alpha-Ratio zeigt sich in den Proben des Musculus deltoideus kein signifikanter Unterschied zwischen Proben männlicher Patienten und Proben weiblicher Patienten.

Abbildung Nr. 8 : Darstellung der Häufigkeitsverteilung der gamma/alpha-ratio in den untersuchten Proben des **Musculus supraspinatus** in **Abhängigkeit des Geschlechts** der Patienten (n=153);

MD = Median; Sdtf. = Standardfehler; Sdtabw = Standardabweichung; M= Mittelwert.

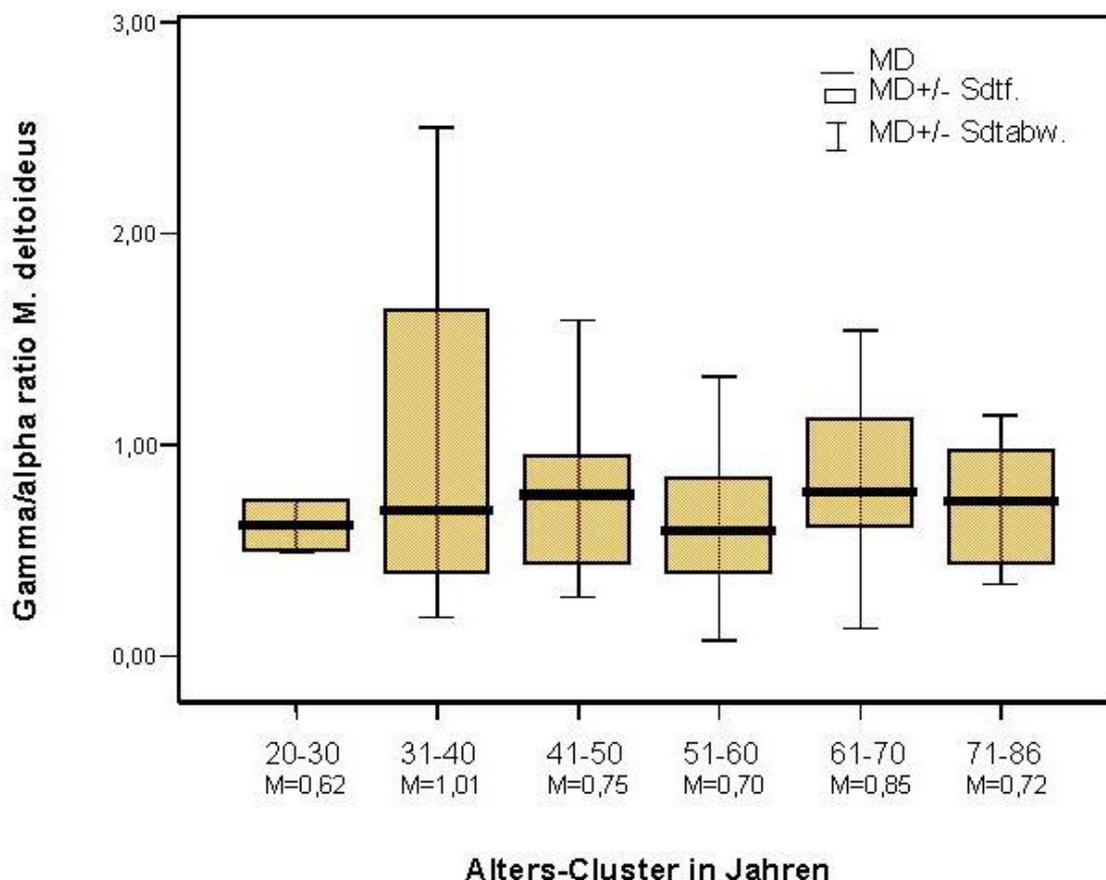


Auch in den untersuchten Proben des Musculus supraspinatus zeigt sich keine Signifikanz in der Verteilung der gamma/alpha-Ratio zwischen den unterschiedlichen Geschlechtern.

In beiden Muskelgruppen zeigen die Gruppen der männlichen Patienten eine höhere Varianz. Ein Grund kann darin liegen, dass die männlichen Patienten die deutlich grössere Gruppe bildet (68% des Patientenkollektivs).

Abbildung Nr. 9 : Darstellung der Häufigkeitsverteilung der gamma/alpha-ratio in den untersuchten Proben des **Musculus deltoideus** in **Abhängigkeit des Alters** (Alters-Cluster) der Patienten (n=153);

MD = Median; Sdtf. = Standardfehler; Sdtabw = Standardabweichung; M= Mittelwert



In der Verteilung über verschiedene Alters-Cluster in der Stichprobe der Patienten mit Rotatorenmanschettensyndrom lassen sich unterschiedliche Expressionsvarianzen feststellen (siehe Abbildung Nr. 9 und Abbildung Nr. 10). In beiden Muskelgruppen werden diese jedoch nicht statistisch.

Die Mittelwerte der gamma/alpha-Ratio bei der Betrachtung der Ergebnisse des Musculus deltoideus zeigen eine stärkere Heterogenität als die des Musculus supraspinatus.

Die Mittelwerte der gamma/alpha-Ratio bei den einzelnen Altersgruppen liegen zwischen 0,62 und 1,01.

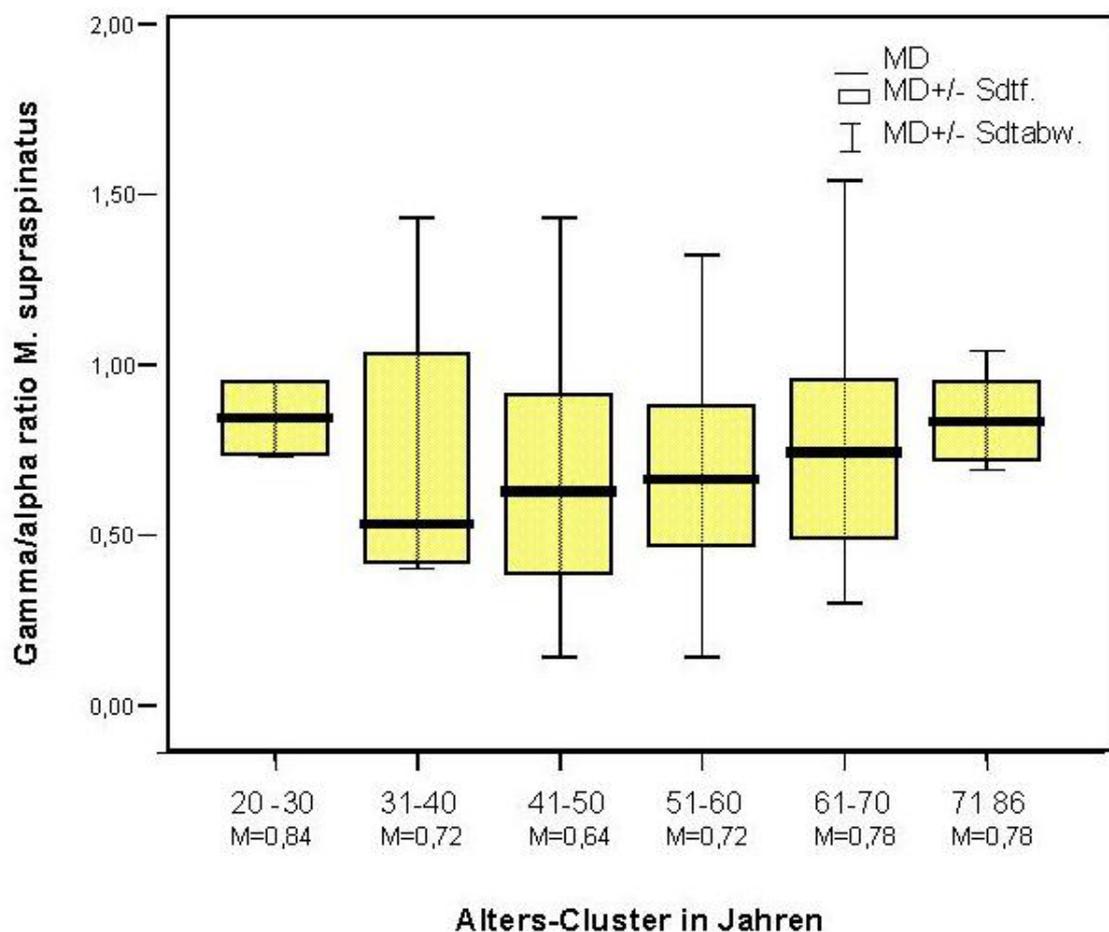
Die größte Streuung innerhalb der Altersgruppen zeigen die 41-50 jährigen Patienten.

Für die untersuchten Biopsate des Musculus deltoideus (siehe Abbildung Nr. 9) zeigt sich, dass der Mittelwert der gamma/alpha-Ratio bei den 31-40 jährigen Patienten am höchsten ist. Diese Gruppe zeigt ebenfalls die größte Streuung innerhalb der Ratio – Werte.

Den niedrigsten Mittelwert der gamma/alpha-Ratio im Musculus deltoideus weisen die jüngsten Patienten in der Stichprobe auf ($M=0,62$).

Abbildung Nr. 10 : Darstellung der Häufigkeitsverteilung der gamma/alpha-ratio in den untersuchten Proben des **Musculus supraspinatus** in **Abhängigkeit vom Alter** (Alters-Cluster) der Patienten (n=153);

MD = Median; Sdtf. = Standardfehler; Sdtabw = Standardabweichung; M = Mittelwert.



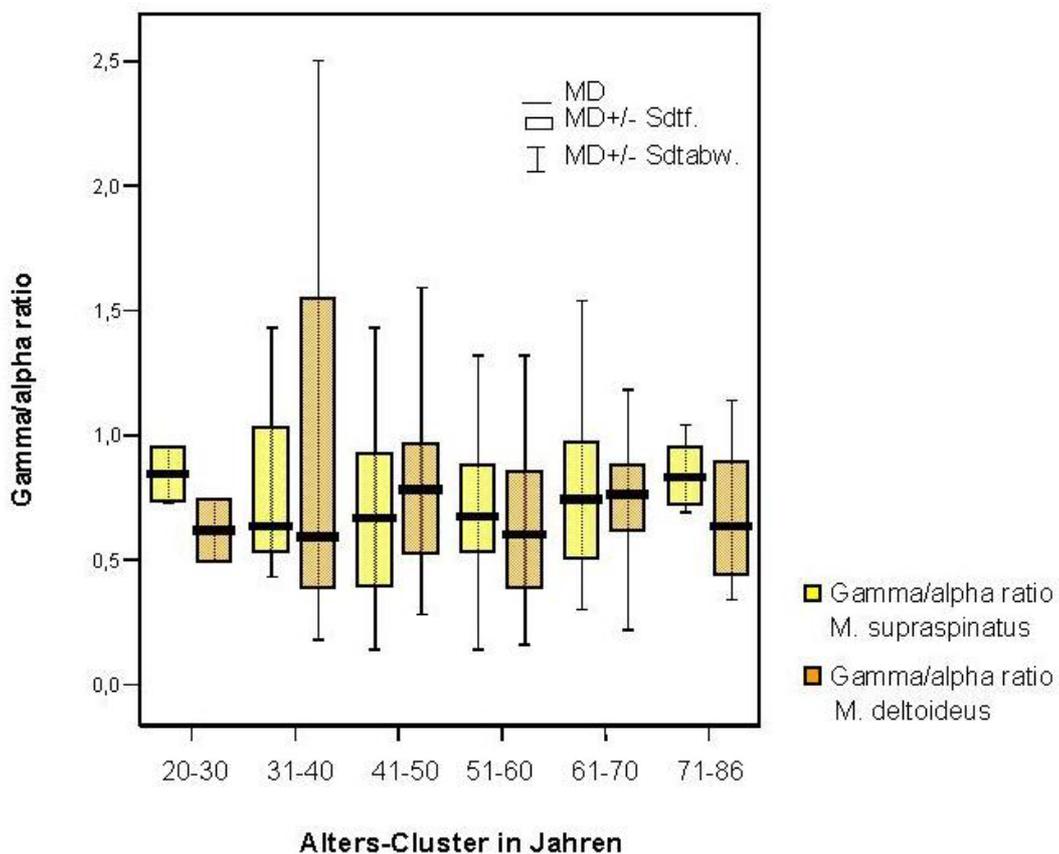
In der nachfolgenden Abbildung wird eine zusammenfassende Darstellung der gamma/alpha-Ratio in den beiden hier untersuchten Muskeln (Musculus deltoideus und Musculus supraspinatus) in Abhängigkeit vom Alter gegeben (dargestellt in jeweils zehn-Jahres-Schritten). Die untersuchten Proben des Musculus deltoideus zeigen in den Altersgruppe der 20-30 -, 31-40 -, sowie 71-86 - Jährigen eine höhere Varianz der gamma/alpha-Ratio-Werte als die untersuchten

Proben des Musculus supraspinatus (siehe Abbildung Nr. 11) in den entsprechenden Altersgruppen.

Hingegen zeigen die Proben des Musculus supraspinatus in den Altersgruppen der 51-60 – Jährigen eine höhere Varianz als die vergleichbaren Proben der gleichen Altersgruppe des Musculus deltoideus.

Abbildung Nr. 11 : Darstellung der Häufigkeitsverteilung der gamma/alpha-ratio in den beiden hier untersuchten Muskeln, also des **Musculus supraspinatus** und des **Musculus deltoideus**, in **Abhängigkeit vom Alter** (Alters-Cluster) der Patienten (n=153);

MD = Median; Sdtf. = Standardfehler; Sdtabw = Standardabweichung.



4.3. Vergleich des gamma/alpha-AchR Expressionsstatus mit der klinischen Diagnose

In den folgenden Tabellen werden die Operation zu Grunde liegenden Erkrankungen aufgeführt, diese werden in vier verschiedene Untergruppen unterteilt. Eine Gruppe bilden die Erkrankungen mit nervalen Läsionen als Ursache. Hiermit sind in dieser Arbeit akute traumatische Nervenverletzungen gemeint. Das Trauma lag nicht länger als 24 Stunden vor der Operation, bzw. Biopsiegewinnung zurück.

In der Gruppe mit entzündlichen Ursachen werden Krankheitsbilder zusammengefasst, welche die entzündlichen Prozesse ausgehend von Gelenken, Sehnen und Schleimbeuteln finden, wie zum Beispiel die rheumatoide Arthritis oder die chronischen Brusitiden.

Die Krankheitsgruppe mit der höchsten Anzahl an untersuchten Muskelproben hat die degenerativen Veränderungen an dem Schultergelenk als Ursache. Hierunter fallen Krankheitsbilder wie die Arthrose oder durch chronische Fehlbelastung entstandene Chondromalazie.

Die letzte aufgeführte Untergruppe ist weder eindeutig der degenerativen Veränderungen, noch den entzündlichen Ursachen zuzuordnen. Hier finden sich entzündliche Erkrankungen in Kombination mit degenerativen Schultergelenkveränderungen, wie zum Beispiel die Arthrose im Acromioclaviculargelenk mit begleitender Tendinitis der langen Bizepssehne.

Tabelle Nr. 4: Zusammenfassende Darstellung der Fallzahlen in Abhängigkeit von den Krankheitsgruppen einerseits und Altersgruppen andererseits

Altersgruppen	Erkrankungen				Gesamt
	Nervale Läsion	Entzündl. Läsion	Degenerative Läsion	Entzündl.-deg. Läsion	
10-Jahres-Schritte					
31-40	1	1	1	1	4
41-50	0	2	9	2	13
51-60	2	2	22	12	38
61-70	1	1	11	4	17
71-86	0	0	3	1	4
Gesamt	4	6	46	20	76

Die degenerativen Ursachen überwiegen in den Erkrankungsbildern des, in dieser Arbeit, untersuchten Patientenkollektivs.

Die in Tabelle Nr. 4 zusammenfassend dargestellten Krankheitsgruppen sollen im Folgenden im Detail und in Relation zu den beobachteten γ/α -Ratios erörtert werden.

In Tabelle Nr. 5 werden speziell jene fünf Muskelbiopsien aufgeführt, die von Patienten stammten, bei denen nach klinischen Angaben eindeutige Hinweise auf ein traumatisch bedingte neurogene Muskelschädigung vorlagen. Da diese Patienten alle notfallmäßig (quasi sofort), in jedem Fall aber innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Trauma operiert wurden, sind diese Biopsien als Beispiele einer akuten Denervierung aufzufassen.

Tabelle Nr. 5: Biopsien, bei denen nach klinischen Angaben und aufgrund klinischer Untersuchungen akute, traumabedingt **Läsionen des Muskelversorgenden Nerven** nachgewiesen waren.

Fall-Nr.	Biopsierter Muskel	Gamma-Alpha-Ratio	Gamma-Untereinheit	Erkrankung
25710 / 00	M. supraspinatus	0,9	Pos	Plexusläsion
25710 / 00	M. deltoideus	0,62	Neg	Plexusläsion
28176 / 00	M. deltoideus	0,78	Pos	N. axillaris Läsion
30775 / 00	M. supraspinatus	0,88	Pos	Plexusläsion
30775 / 00	M. deltoideus	1,12	Pos	Plexusläsion

Die Befunde in Tabelle 5 zeigen, dass nach einer akuten Denervierung in 4 von 5 Muskelbiopsien noch keine eindeutig abnorme Überexpression und damit noch keine pathologische Veränderung der γ/α -Ratio von >1.0 feststellbar war. Eine der Biopsien (30775/00) zeigte jedoch eine abnorme Erhöhung der γ/α -Ratio, wobei aufgrund mangelnder klinischer Vorbefunde offen bleiben muss, ob bei diesem Patienten eine besonders schnelle Anschaltung der Transkription des Gens der AChR γ -Untereinheit erfolgte, oder ob dieser Patient an einer chronischen Vorschädigung des Nerven gelitten hat.

Tabelle Nr. 6: Biopsien, bei denen nach klinischen Angaben und aufgrund klinischer Untersuchungen **entzündliche Veränderungen der Muskelbegleitenden Weichgewebe** nachgewiesen waren oder vermutet wurden.

Also jene Biopsien, die von Patienten stammten, welche an entzündlichen Prozessen der Gelenke, Schleimbeutel und Sehnen litten. Speziell handelte es sich zum Beispiel um Patienten mit nachgewiesener Rheumatoider Arthritis.

Verwendete Abkürzungen:

LBS = Lange Bicepssehnen-Syndrom,

Tend. Cal. = Periarthropathia humeroscapularis calcificans

Fall-Nr.	Biopsierter Muskel	Gamma-Alpha-Ratio	Gamma-Untereinheit	Erkrankung
19658 / 00	M. supraspinatus	0,14	Neg	Bursitis
19658 / 00	M. deltoideus	0,67	Pos	Bursitis
22828 / 00	M. supraspinatus	0,4	Neg	Tend. Cal.
25198 / 00	M. supraspinatus	0,7	Pos	Synovialitis
25198 / 00	M. deltoideus	0,63	Neg	Synovialitis
28499 / 00	M. supraspinatus	0,91	Pos	LBS
28499 / 00	M. deltoideus	0,85	Pos	LBS
3144 / 01	M. supraspinatus	0,44	Neg	Synovialitis, Bursitis
3144 / 01	M. deltoideus	0,48	Neg	Synovialitis, Bursitis
3144 / 01	M. subscapularis	0,95	Pos	Synovialitis, Bursitis
4265 / 01	M. supraspinatus	0,72	Pos	LBS
4265 / 01	M. deltoideus	0,3	Neg	LBS

Die Befunde in Tabelle Nr. 6 zeigen, dass es bei entzündlichen Veränderungen zu keine signifikanten Überexpression von dem fetalen Acetylcholinrezeptortyps kommt. In keiner der untersuchten Proben mit rein entzündlicher Grunderkrankung kam es zu einer gamma/alpha-Ratio von > 1,0.

Tabelle Nr. 7: Biopsien, bei denen nach klinischen Angaben und auf Grund klinischer Untersuchungen **degenerative Veränderungen im Schultergelenk** als Ursache angesehen wurden. Gemeint sind degenerative Erkrankungen des Schultergürtels wie Arthrose im Acromioclavicular-Gelenk, Chondromalazie oder subacromial Syndrom.

Verwendete Abkürzungen:

AC-A = Acromioclaviculargelenks-Arthrose,

SAS = subacromial Syndrom,

CM = Chondromalazie

Fall-Nr.	Biopsierter Muskel	Gamma-Alpha-Ratio	Gamma-Untereinheit	Erkrankung
15031 / 00	M. supraspinatus	1,43	Pos	AC-A
15031 / 00	M. deltoideus	2,5	Pos	AC-A
15260 / 00	M. supraspinatus	n.a.	---	AC-A
15260 / 00	M. deltoideus	n.a.	---	AC-A
13841 / 00	M. supraspinatus	0,5	Neg	AC-A
16246 / 00	M. supraspinatus	0,56	Neg	AC-A
16246 / 00	M. deltoideus	0,2	Neg	AC-A
16575 / 00	M. supraspinatus	0,48	Neg	SAS, AC-A
16575 / 00	M. deltoideus	0,28	Neg	SAS, AC-A
16635 / 00	M. supraspinatus	n.a.	---	AC-A
16635 / 00	M. deltoideus	0,43	Neg	AC-A
16855 / 00	M. supraspinatus	0,43	Neg	AC-A
16855 / 00	M. deltoideus	0,25	Neg	AC-A
17350 / 00	M. supraspinatus	0,17	Neg	AC-A
17350 / 00	M. deltoideus	n.a.	---	AC-A
18135 / 00	M. supraspinatus	1,43	Pos	AC-A
18135 / 00	M. deltoideus	1	Pos	AC-A
18280 / 00	M. supraspinatus	0,43	Neg	SAS, AC-A
18280 / 00	M. deltoideus	0,23	Neg	SAS, AC-A
16997 / 00	M. supraspinatus	0,5	Neg	AC-A
16997 / 00	M. deltoideus	0,56	Neg	AC-A
16997 / 00	M. subscapularis	0,25	Neg	AC-A
17878 / 00	M. supraspinatus	0,3	Neg	AC-A
17878 / 00	M. deltoideus	0,83	Pos	AC-A
17879 / 00	M. supraspinatus	n.a.	---	AC-A
17879 / 00	M. deltoideus	0,67	Pos	AC-A
18618 / 00	M. supraspinatus	0,14	Neg	AC-A
18618 / 00	M. deltoideus	0,16	Neg	AC-A
19424 / 00	M. supraspinatus	0,26	Neg	AC-A

19424 / 00	M. deltoideus	0,37	Neg	AC-A
19488 / 00	M. supraspinatus	0,18	Neg	AC-A
19488 / 00	M. deltoideus	0,28	Neg	AC-A
21304 / 00	M. supraspinatus	0,62	Neg	AC-A
21304 / 00	M. deltoideus	1,25	Pos	AC-A
22475 / 00	M. supraspinatus	1,02	Pos	AC-A
22475 / 00	M. deltoideus	0,77	Pos	AC-A
22952 / 00	M. supraspinatus	0,5	Neg	AC-A
22952 / 00	M. deltoideus	0,59	Neg	AC-A
23286 / 00	M. supraspinatus	0,71	Pos	AC-A
23286 / 00	M. deltoideus	0,77	Pos	AC-A
23287 / 00	M. supraspinatus	0,62	Neg	AC-A
23287 / 00	M. deltoideus	0,83	Pos	AC-A
23404 / 00	M. supraspinatus	0,62	Neg	SAS
23404 / 00	M. deltoideus	n.a.	---	SAS
23666 / 00	M. supraspinatus	0,65	Neg	AC-A
23666 / 00	M. deltoideus	0,34	Neg	AC-A
24005 / 00	M. deltoideus	0,28	Neg	SAS
24005 / 00	M.	0,49	Neg	SAS
24219 / 00	M. supraspinatus	0,6	Neg	AC-A
24219 / 00	M. deltoideus	0,56	Neg	AC-A
25345 / 00	M. supraspinatus	0,39	Neg	AC-A
25345 / 00	M. deltoideus	0,41	Neg	AC-A
25470 / 00	M. supraspinatus	n.a.	---	SAS
25470 / 00	M. deltoideus	0,28	Neg	SAS
25472 / 00	M. supraspinatus	n.a.	---	AC-A
25472 / 00	M. deltoideus	0,79	Pos	AC-A
25586 / 00	M. supraspinatus	n.a.	---	AC-A
25586 / 00	M. deltoideus	0,51	Neg	AC-A
26775 / 00	M. supraspinatus	n.a.	---	AC-A
26775 / 00	M. deltoideus	2,13	Pos	AC-A
26877 / 00	M. supraspinatus	n.a.	---	SAS
26877 / 00	M. deltoideus	0,07	Neg	SAS
28175 / 00	M. supraspinatus	0,38	Neg	AC-A
28175 / 00	M. deltoideus	0,21	Neg	AC-A
29085 / 00	M. supraspinatus	0,45	Neg	SAS, AC-A
29381 / 00	M. supraspinatus	0,93	Pos	AC-A
29381 / 00	M. deltoideus	0,6	Neg	AC-A
30000 / 00	M. supraspinatus	1,05	Pos	AC-A
30000 / 00	M. deltoideus	0,95	Pos	AC-A
72 / 01	M. supraspinatus	1,54	Pos	AC-A
72 / 01	M.	1,54	Pos	AC-A
895 / 01	M. supraspinatus	0,62	Neg	AC-A
895 / 01	M. deltoideus	0,85	Pos	AC-A
983 / 01	M. deltoideus	1,02	Pos	AC-A
3408 / 01	M. supraspinatus	0,44	Neg	SAS, AC-A
3408 / 01	M. deltoideus	0,3	Neg	SAS, AC-A
3869 / 01	M. supraspinatus	0,83	Pos	AC-A

3869 / 01	M. deltoideus	0,34	Neg	AC-A
5158 / 01	M. supraspinatus	0,72	Pos	AC-A
5158 / 01	M. deltoideus	0,79	Pos	AC-A
5194 / 01	M. supraspinatus	1,79	Pos	AC-A
5194 / 01	M. deltoideus	1,45	Pos	AC-A
5195 / 01	M. supraspinatus	0,69	Pos	AC-A
5195 / 01	M. deltoideus	0,69	Pos	AC-A
5814 / 01	M. supraspinatus	0,79	Pos	AC-A
5814 / 01	M. deltoideus	0,85	Pos	AC-A
6325 / 01	M. supraspinatus	1,41	Pos	AC-A
6325 / 01	M. deltoideus	0,88	Pos	AC-A
6436 / 01	M. supraspinatus	0,38	Neg	AC-A
6436 / 01	M. deltoideus	0,54	Neg	AC-A
6739 / 01	M. supraspinatus	n.a.	---	CM
6739 / 01	M. deltoideus	0,98	Pos	CM
7016 / 01	M. supraspinatus	2,22	Pos	AC-A
7016 / 01	M. deltoideus	3,57	Pos	AC-A
7145 / 01	M. supraspinatus	0,86	Pos	AC-A
7145 / 01	M. deltoideus	0,45	Neg	AC-A

In dieser Gruppe (siehe Tabelle Nr. 7) kam es neben nicht erhöhten Werten, also nicht pathologischen, und gering erhöhten gamma/alpha-Ratios auch zu signifikant erhöhten gamma/alpha-Ratios (siehe Biopsate mit dickgedruckten Fall-Nummern). Als Grunderkrankung wurde auf Grund der klinischen Diagnostik eine Acromioclavicular-Arthrose festgestellt. Eine Erklärung für diese hohen gamma/alpha-Ratios wäre eine begleitende nervale Schädigung der Rotatorenmanschette, möglicherweise durch Druckschäden bedingt durch osteophytische Umbaureaktionen im Schultergelenk.

In der letzten Gruppe untersuchter Muskelbiopsien sind „Kombinationserkrankungen“ aufgeführt (Tabelle Nr. 8). Dabei handelt es sich um komplexe Krankheitsbilder, bei denen mindestens zwei unterschiedliche und klinisch jeweils signifikante Krankheitsbilder der Schulter gemeinsam vorkamen, zum Beispiel ein signifikanter entzündlicher Prozess und eine klinisch signifikante degenerative Erkrankung. Besonders häufig waren dabei Kombinationen aus einer Bursi-

tis oder Tendinitis einerseits und einer Arthrose im acromioclavicularen Gelenk andererseits, siehe Tabelle Nr. 8).

Tabelle Nr. 8: Biopsate, bei denen nach klinischen Angaben und aufgrund klinischer Untersuchungen **entzündlich-degenerative Veränderungen im Schultergelenk** als Ursachen der Erkrankung angesehen wurde.

Verwendete Abkürzungen:

LBS = Lange Bicepssehnen-Syndrom,

AC-A = Acromioclaviculargelenks-Arthrose,

SAS = subacromial Syndrom,

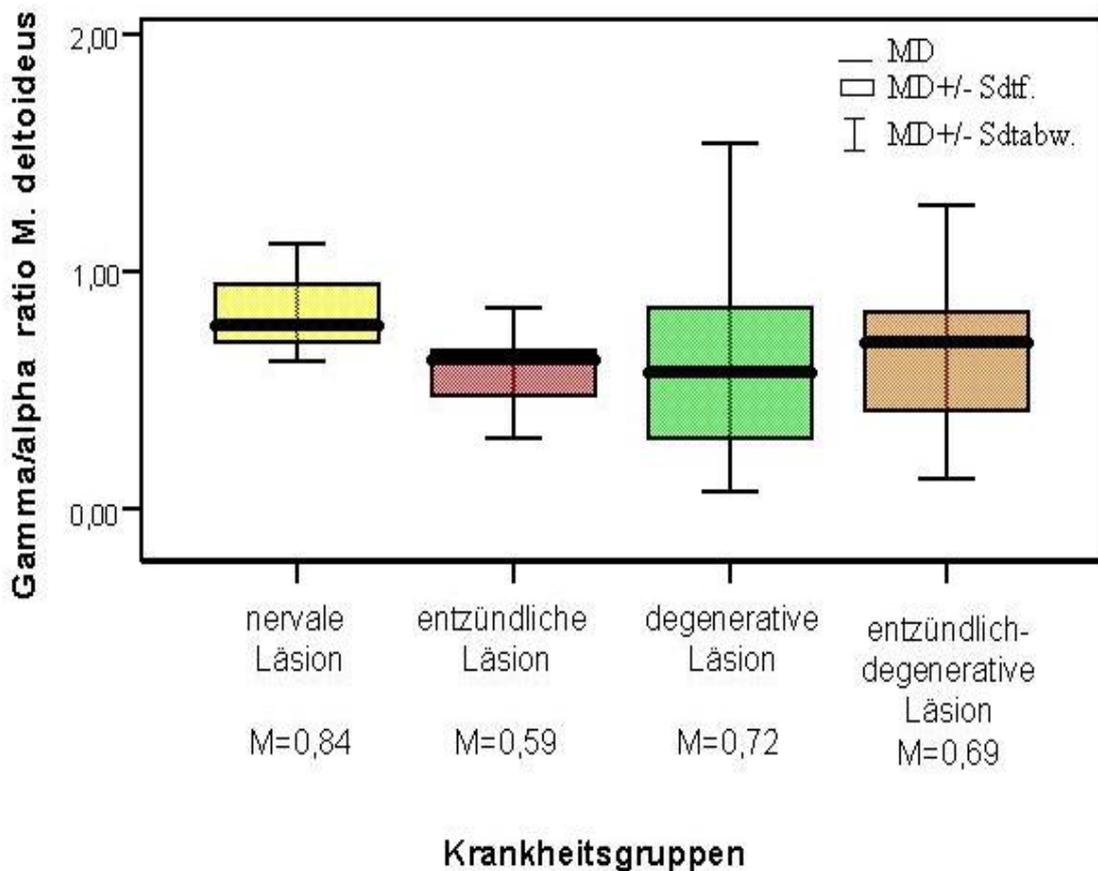
Fall-Nr.	Biopsierter Muskel	Gamma-Alpha-Ratio	Gamma-Untereinheit	Erkrankung
17105 / 00	M. supraspinatus	0,3	Neg	Bursitis, AC-A
17105 / 00	M. deltoideus	0,13	Neg	Bursitis, AC-A
10853 / 00	M. supraspinatus	0,32	Neg	LBS, AC-A
10853 / 00	M. deltoideus	n.a.	---	LBS, AC-A
17615 / 00	M. subscapularis	n.a.	---	Bursitis, AC-A
17615 / 00	M. deltoideus	0,7	Pos	Bursitis, AC-A
18948 / 00	M. supraspinatus	0,19	Neg	Bursitis, SAS
18948 / 00	M. deltoideus	n.a.	---	Bursitis, SAS
20280 / 00	M. supraspinatus	0,43	Neg	SAS, Bursitis
20280 / 00	M. deltoideus	0,59	Neg	SAS, Bursitis
21094 / 00	M. supraspinatus	0,59	Neg	Bursitis, AC-A
21094 / 00	M. deltoideus	0,24	Neg	Bursitis, AC-A
21297 / 00	M. supraspinatus	0,59	Neg	Bursitis, SAS
21297 / 00	M. deltoideus	0,56	Neg	Bursitis, SAS
22474 / 00	M. supraspinatus	0,83	Pos	AC-A, LBS
22474 / 00	M. deltoideus	0,83	Pos	AC-A, LBS
23285 / 00	M. supraspinatus	0,77	Pos	Synovialitis, AC-A
23285 / 00	M. deltoideus	0,71	Pos	Synovialitis, AC-A
23403 / 00	M. supraspinatus	0,56	Neg	LBS, AC-A
23403 / 00	M. deltoideus	0,59	Neg	LBS, AC-A
27269 / 00	M. supraspinatus	0,4	Neg	LBS, AC-A
27269 / 00	M. deltoideus	0,3	Neg	LBS, AC-A
29380 / 00	M. supraspinatus	0,37	Neg	Bursitis, AC-A
29380 / 00	M. deltoideus	0,86	Pos	Bursitis, AC-A
29806 / 00	M. supraspinatus	0,26	Neg	Bursitis, AC-A
29806 / 00	M. deltoideus	n.a.	---	Bursitis, AC-A

30200 / 00	M. supraspinatus	0,99	Pos	LBS, AC-A
30200 / 00	M. deltoideus	0,27	Neg	LBS, AC-A
30200 / 00	M. infraspinatus	0,48	Neg	LBS, AC-A
30200 / 00	M. teres major	0,77	Pos	LBS, AC-A
30200 / 00	M. teres minor	0,96	Pos	LBS, AC-A
30200 / 00	M. latissimus dorsi	0,5	Neg	LBS, AC-A
30458 / 00	M. supraspinatus	0,72	Pos	Bursitis, AC-A
30458 / 00	M. deltoideus	0,76	Pos	Bursitis, AC-A
30661 / 00	M. supraspinatus	0,64	Neg	Bursitis, AC-A
30661 / 00	M. deltoideus	1,64	Pos	Bursitis, AC-A
31109 / 00	M. supraspinatus	1,22	Pos	LBS, AC-A
31109 / 00	M. infraspinatus	1,37	Pos	LBS, AC-A
31109 / 00	M. deltoideus	1,12	Pos	LBS, AC-A
31221 / 00	M. supraspinatus	1,16	Pos	Tendinitis, AC-A
31221 / 00	M. deltoideus	1,28	Pos	Tendinitis, AC-A
31221 / 00	M. subscapularis	1,09	Pos	Tendinitis, AC-A
5435 / 01	M. supraspinatus	1,04	Pos	AC-A, Tendinitis
5435 / 01	M. deltoideus	0,42	Neg	AC-A, Tendinitis
6115 / 01	M. supraspinatus	1,79	Pos	LBS, AC-A
6115 / 01	M. deltoideus	0,74	Pos	LBS, AC-A

Auch bei diesen Befunden (siehe Tabelle Nr. 8) kommt es in einigen untersuchten Proben zu erhöhten gamma/alpha-Ratios (>1). Auch in diesen Fällen muss mit einer kombinierten nervalen Läsion der Rotatorenmanschette gerechnet werden.

Abbildung Nr. 12 : Darstellung der Häufigkeitsverteilung der gamma/alpha-Ratios in den untersuchten Proben des **Musculus deltoideus in Abhängigkeit vom Läsionstyp** bei den hier untersuchten Patienten (n=153);

MD = Median; Sdtf. = Standardfehler; Sdtabw = Standardabweichung; M= Mittelwert



Analysiert man die Musculus deltoideus-Biopsien erhobenen molekularbiologischen Befunde (gamma/alpha-ratio) unter Berücksichtigung der verschiedenen Krankheitsgruppen, ergibt sich folgendes Bild (siehe Abbildung Nr. 12):

Die Mittelwerte für die Ratio zeigen deutliche Unterschiede. Der geringste Mittelwert zeigt sich bei der Diagnose entzündliche Läsion mit 0,59.

Den höchsten Mittelwert findet man bei den nervalen Läsionen ($M=1,16$) – diese Diagnose zeigt auch das höchste Maß an Streuung (siehe Abb. 12).

Etwas anders ist das Bild bei den Proben des Musculus supraspinatus.

Hier weisen ebenfalls wie bei den untersuchten Proben des Musculus deltoideus die entzündlichen Läsionen den geringsten Mittelwert auf ($M=0,55$). Der höchste Wert findet sich hier bei den nervalen Läsionen mit ($M=0,89$).

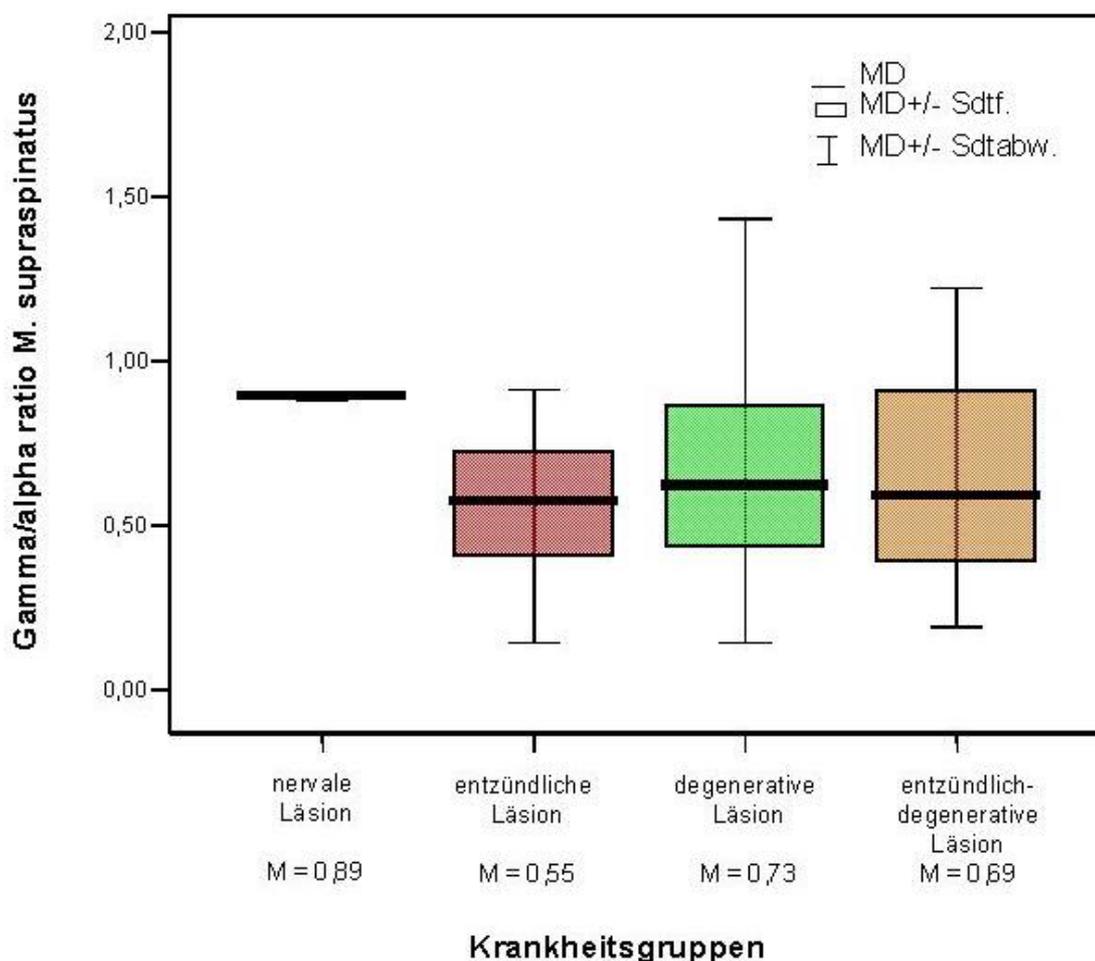
Aus statistischer Sicht lassen sich trotz aller Mittelwertsunterschiede keine signifikanten Unterschiede zwischen den hier von einander abgegrenzten Krankheitsgruppen errechnen. Eine positive Diagnose allein aufgrund der gamma/alpha-Ratio Werte ist daher nicht möglich (siehe Anhang).

Wegen der minimalen Standardabweichung und der konstant hohen gamma/alpha-Ratios in Musculus supraspinatus-Biopsien von Patienten mit nervalen Grunderkrankungen, lässt sich aber eine neurale / nervale Grunderkrankung weitgehend ausschließen, wenn in einer Musculus supraspinatus-Biopsie die gamma/alpha-Ratio kleiner 0,67 liegt.

Die geringe Varianz in dieser Krankheitsgruppe könnte jedoch auch zufällige Folge einer geringen Stichprobenzahl sein ($n = 5$). Die Schlussfolgerung wäre attraktiv, kann jedoch nicht aus der vorliegenden Arbeit mit Sicherheit postuliert werden.

Abbildung Nr. 13: Darstellung der Häufigkeitsverteilung der gamma/alpha-ratio in den untersuchten Proben des **Musculus supraspinatus** in **Abhängigkeit der Läsionstypen** der Patienten (n=153);

MD = Median; Sdtf. = Standardfehler; Sdtabw = Standardabweichung; M= Mittelwert



Interessanterweise zeigt sich in der statistischen Auswertung eine Signifikanz für das gekoppelte Auftreten pathologischer gamma/alpha – Ratios in den untersuchten Muskelgruppen. Dies bedeutet, dass es bei einem pathologischen Ratio - Wert einer Muskelgruppe (zum Beispiel M. deltoideus) mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einem weiteren pathologischen Wert in der zugehörigen anderen Muskelgruppe (zum Beispiel M. supraspinatus) kommt.

5. Diskussion

Die Ätiologie des Rotatorenmanschettensyndromes ist bislang nicht vollständig geklärt, wobei insgesamt von einem multifaktoriellen Geschehen ausgegangen wird [Mehta S 2003]. Neben Ursachen wie Degeneration, Fehlbelastung und Vorschäden (wie z.B. vorangegangene Traumata) wurden insbesondere mittels bildgebenden Verfahren atrophische Muskelveränderungen bei Rotatorenmanschettensyndromen beschrieben [Bredella 1999, Meyer DC 2005]. In Einzelberichten zur Frage einer Muskelatrophie der Rotatorenmanschette als Ursache einer muskulären Dysbalance, dem sogenannten *Funktionellen Impingement* [Budoff JE 2003], wurden Biopsate des M. supraspinatus und des M. deltoideus histomorphologisch und enzymhistochemisch untersucht [Gansen 2002]. Es zeigte sich dabei eine Verkleinerung der Faserquerschnitte in allen untersuchten Muskelbiopsaten, die als Hinweis für eine Koordinationsstörung der Schultermuskulatur im Sinne einer neuromuskulären Insuffizienz interpretiert wurden.

Basierend auf diesen Ergebnissen und unter der Hypothese, dass das Ausmaß der vorbestehenden Muskelatrophie den postoperativen Regenerations- und Refunktionalisierungsprozess beim Rotatorenmanschettensyndrom beeinflusst, wurde in der vorliegenden Arbeit die mRNA Expression des fetalen Acetylcholinrezeptors (fAChR) bei Patienten mit sog. Rotatorenmanschettensyndrom zur Frage einer neurogenen Schädigung in den Muskelgruppen des M. deltoideus und des M. supraspinatus semiquantitativ untersucht.

Der fetale Acetylcholinrezeptor ist ein pentamerer Ionenkanal aus vier Untereinheiten [Changeux 1992], der beim Menschen physiologischerweise in seiner fetalen bzw. postnatal in seiner adulten Isoform an der neuromuskulären Endplatte sowie an einzelnen Myoizellen im Thymus exprimiert wird [Marx 1989]. In eigenen Vorarbeiten konnte gezeigt werden, dass die Überexpression des fetalen Acetylcholinrezeptors bei zwei Erkrankungen eine wesentliche diagnostische und zum Teil auch therapeutische Rolle spielt:

1. Bei Rhabdomyosarkomen, dem häufigsten malignen Weichgewebstumor des Kindesalters, findet sich eine tumorspezifische Hochregulierung des

fetalen Acetylcholinrezeptors im Vergleich zum Normalmuskel und zu zahlreichen anderen, differentialdiagnostisch relevanten Neoplasien [Gattenlöhner, Am J Path, 1998]. Die hier beschriebene multiplex-RT-PCR zum simultanen Nachweis der α und γ Untereinheit des fetalen Acetylcholinrezeptors unter Ermittlung der sogenannten γ/α -Ratio [Gattenlöhner et al. J Mol Diagn 1999, Diagn Mol Pathol 1999] stellt dabei eine einfache und zuverlässige Nachweismethode dar, die im Institut für Pathologie der Universität routinemäßig bei den entsprechenden Fragestellungen zum Einsatz kommt.

2. Bei neuromuskulären Erkrankungen konnte eine auf die TYP1 Muskelfasern restringierte Überexpression des fetalen Acetylcholinrezeptors im Vergleich zu inflammatorischen und nicht-inflammatorischen Myopathien [Gattenlöhner et al. Brain 2002] gezeigt werden. Unter Verwendung zahlreicher normaler Muskelbiopsien verschiedener Lokalisationen zeigte sich dabei, dass unabhängig vom Alter und dem Geschlecht der Patienten eine γ/α ratio von $>0,67$ spezifisch für eine (zumindest partielle zugrunde liegende) neurogene Schädigung ist.

In der hier vorgestellten Arbeit konnte gezeigt werden, dass die mRNA- Expression des fetalen Acetylcholinrezeptors sowohl im M. supraspinatus als auch im M. deltoideus bei der Mehrzahl der Patienten (74%) erhöht war, wobei interessanterweise eine signifikant höhere fAChR-Expression bei degenerativen und entzündlichen Erkrankungen als bei nervalen Läsionen nachgewiesen werden konnte. Dies ist in erster Linie darauf zurückzuführen, dass das Patientenkollektiv der sog „nervalen Läsionen“ aus Akutpatienten bestand, die im Rahmen eines Traumas eine Schulterverletzung erlitten hatten und keine vorbestehende Symptomatik bzw. charakteristische Beschwerden eines Rotatorenmanschetensyndoms angaben.

Aus morphologischen und enzymhistochemischen Untersuchungen an akut denervierten humanen quergestreiften Muskeln ist beschrieben, dass bezüglich

der Faserkaliberschwankung sowie der NADPH Expression nur ganz geringgradige Alterationen nachweisbar waren [Gosztanyi G, Microsc Res Tech, 2001]. Darüberhinaus wird CD56(NCAM), ein Zelladhäsionsmolekül, das nach unseren eigenen (unveröffentlichten) Arbeiten im normalen und denervierten Muskel ein nahezu identisches Expressionsprofil wie der fetale Acetylcholinrezeptor aufweist, im Gegensatz zur chronischen Denervierung im akut denervierten Muskel nur ganz geringgradig exprimiert [Gosztanyi G, Microsc Res Tech, 2001].

Diese eigene Beobachtung einerseits, dass nämlich bei akuten traumatischen Schäden der Rotatorenmanschette unter Einbeziehung nervaler Läsionen nur eine geringe und im Vergleich zu chronischen degenerativen/entzündlichen Erkrankungen der Rotatorenmanschette niedrigere Expression des fetalen Acetylcholinrezeptors nachweisbar ist und die nur geringen morphologischen Alterationen bzw. diskrete Expressionssteigerung für CD56(NCAM) im akut denervierten Muskel andererseits, legen zwei wesentliche Schlussfolgerungen nahe:

1. Die Expressionssteigerung des fetalen Acetylcholinrezeptors bei chronischen degenerativen/entzündlichen Erkrankungen der Rotatorenmanschette ist weder ein alters- oder geschlechtsbedingtes Artefakt (siehe Abbildung Nr. 9), noch ist diese eine „physiologische“ Expressionsteigerung im Rahmen eines natürlichen und von Erkrankungen der Rotatorenmanschette unabhängigen Abnutzungsprozesses, da bei akut traumatisierten Patienten *ohne* entsprechende Vorschäden der Rotatorenmanschette nur eine geringgradige Expressionssteigerung des fetalen Acetylcholinrezeptors nachweisbar war. Dies erscheint umso wichtiger, als die Entnahme von Biopsien aus dem M. deltoideus und dem M. supraspinatus zur Etablierung einer Kontrollgruppe von „Rotatorenmanschette-normalen“ Patienten aus ethischen und medizinischen Gründen nicht indiziert war.

2. Die Überexpression des fetalen Acetylcholinrezeptors bei chronischen degenerativen/entzündlichen Erkrankungen der Rotatorenmanschette kann somit unter Berücksichtigung der hier erzielten Ergebnisse sowie der eigenen Vorarbeiten [Gattenlöhner et al; Brain 2002] als Hinweis für eine neurogene Schädigung des M. deltoideus und des M. supraspinatus beim Rotatorenmanschetten-Syndrom gewertet werden.

Ungeklärt bleibt aber weiterhin, ob es sich bei diesen neurogenen Veränderungen um die Ursache oder aber die Folge von Erkrankungen der Rotatorenmanschetten handelt. Obschon eine rein neurogene Ätiologie unter Berücksichtigung der vielschichtigen Pathogenese des Rotatorenmanschetten-Syndroms (siehe Einleitung) wenig wahrscheinlich erscheint, ergeben sich dennoch aus Literaturberichten über geburtstraumatische Schäden des Plexus brachialis diesbezüglich interessante Hinweise [Poyhia TH, *Pediatr Radiol* 2005]. In diesen Arbeiten wird nämlich beschrieben, dass es durch eine sogenannte BPBI (brachial plexus birth injury) zu einer Muskelatrophie mit Retroversion und Subluxation des Humeruskopfes und insbesondere einer Imbalance der Schultermuskeln [s.o. funktionelles Impignement, Budoff JE 2003] kommt.

Ein weiterer Aspekt der hier vorgestellten Arbeit schließlich war die Frage, ob das Ausmaß der mittels der γ/α -Ratio des fetalen Acetylcholinrezeptors nachgewiesenen neurogenen Schädigung ein prädiktiver Faktor für die postoperative Regeneration und Refunktionalisierung nach chirurgischer Therapie des Rotatorenmanschetten-Syndrom sein kann. Aus Literaturberichten ist bekannt, dass Faktoren wie zum Beispiel des Zigarettenrauchen eine negativen Effekt auf den postoperativen Verlauf beim Rotatorenmanschetten-Syndrom nehmen [Mallon WJ 2004]. Die Bedeutung neurogener bzw. atrophischer Muskelveränderungen wurde demgegenüber zwar mehrfach diskutiert und untersucht, wobei trotz relevanter Hinweise keine eindeutige, Korrelation nachgewiesen werden konnte, was von den Autoren zum Teil irritiert kommentiert wurde [Uhthoff HK, 2003 „...*In experimental studies we were able to measure muscle atrophy and*

fat accumulation and could quantify their evolution over time. Finding no reversal of these two parameters after successful repair was disturbing”.]

In einer aus technischen und logistischen Gründen begrenzten postoperativen Kleinstudie bezüglich der Regeneration und Refunktionalisierung der Schultermuskulatur zeigte sich in einem Kollektiv von acht Patienten, dass **die beiden** Patienten, die im Rahmen der molekularbiologischen Untersuchungen eine sehr hohe γ/α -Ratio als Hinweis für eine ausgeprägte neurogene Schädigung aufwiesen (Nr. 15031/01 und Nr.72/01, siehe Tabelle 3) klinisch von allen untersuchten Patienten den schlechtesten „clinical outcome“ hatten, was sich in einem *UCLA score* [Ellman H Bone Joint Surg Am 1986] von <20 quantifizieren ließ (persönliche Mitteilung von Herrn Prof. Dr. Gohlke).

Zusammenfassend konnte in der vorliegenden Arbeit bei Patienten mit Rotatorenmanschettensyndrom eine Expressionssteigerung des fetalen Acetylcholinrezeptors in den überwiegenden untersuchten Biopsien den M. deltoideus und M. supraspinatus als Hinweis für eine neurogene Schädigung nachgewiesen werden. Darüber hinaus konnte in einer kleinen Serie zur Frage des postoperativen Verlaufes gezeigt werden, dass die Überexpression des fetalen Acetylcholinrezeptors offenbar auch quantitativ mit der postoperativen Regeneration und Refunktionalisierung korreliert.

Ob es sich bei der hier festgestellten neurogenen Schädigung hinsichtlich der Pathogenese des Rotatorenmanschetten-Syndroms um die Ursache, die Konsequenz oder aber eine Kombination aus beiden handelt und inwieweit sich das prädiktive Potential der Überexpression des fetalen Acetylcholinrezeptors an einer größeren Patientenzahl bestätigt, werden weitere Untersuchungen zeigen.

6. Zusammenfassung

Die Ursachen des Rotatorenmanschettensyndroms sind vielfältigen Ursprungs. Ausgehend von der Hypothese, dass die vorbestehende Muskelatrophie der Rotatorenmanschette die postoperativen Refunktionalisierung beeinflusst, wurde in dieser vorliegenden Arbeit eine semiquantitative Bestimmung der mRNA-Expression des fetalen Acetylcholinrezeptors untersucht. In Voruntersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass es bei neurogenen Schäden zu einer Überexpression des fetalen Acetylcholinrezeptors kommt.

In dieser Arbeit konnte nun bei der Mehrheit der untersuchten Proben (in 74%) eine erhöhte Expression des fetalen Acetylcholinrezeptors bei Rotatorenmanschettensyndrom nachgewiesen werden.

Ein signifikanter Unterschied zeigte sich zwischen den Patienten mit entzündlichen und degenerativen Grunderkrankungen der Rotatorenmanschette und des Patientenkollektivs mit nervalen Läsionen. Ausgehend von Voruntersuchungen würde man eine erhöhte Expression der mRNA des fetalen Acetylcholinrezeptors in denervierter und somit atrophierte Skelettmuskulatur erwarten. Dass dieses Ergebnis in der hier vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden kann, liegt an der Tatsache, dass die untersuchten Proben mit nervaler Läsion Akutpatienten entstammen, welche ihr Trauma in einer Zeitspanne von bis zu 24 Stunden präoperativ erlitten hatten und es somit noch nicht zu einer signifikanten Expression des fetalem Acetylcholinrezeptors gekommen war.

In einer kleinen klinischen Studie konnte eine Korrelation zwischen Überexpression des fetalen acetylcholinrezeptors und der postoperativen Refunktionalisierung bzw. Regeneration nachgewiesen werden.

In wie weit der Nachweis des fetalen Acetylcholinrezeptors eine Diagnose der neurogenen Schädigung bei Rotatorenmanschettensyndrom zulässt, kann die vorliegende Arbeit nicht sagen, hierfür müssen weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

7. Literaturverzeichnis

1. **Adams L., Carlson B.M., Henderson L., Goldman D.**, *Adaption of nicotinic acetylcholine receptor, myogenin, and MRF4 gene expression to long-term muscle denervation*, Cell Biol, 1995 Dec; 131 (5): 1341-9.
2. **Askanas V, Engel WK, Mirabella M**, *Idiopathic inflammatory myopathies: inclusion-body myositis, polymyositis and dermatomyositis*, Curr Opin Neurol, 1994 Oct; 7 (5): 448-56.
3. **Belluardo N, Westerblad H, Mudo G, Casabona A, Bruton J, Caniglia G et al**; *Neuromuscular junction disassembly and muscle fatigue in mice lacking neurotrophin-4*, Mol Cell Neurosci, 2001 Jul; 18 (1): 56-67.
4. **Bradley WG, Jones MZ, Mussini JM, Fawcett PR**, *Becker-type muscular dystrophy*, Muscle Nerve, 1978 Mar-Apr; 1 (2): 111-32.
5. **Buckingham M**, *Skeletal muscle formation in vertebrates* (review), Curr Opin Genet Dev, 2001 Aug; 11 (4): 440-8.
6. **Budoff JE, Nirschl RP, Ilahi OA, Rodin DM**, *Internal impingement in the etiology of rotator cuff tendinosis revisited.*, Arthroscopy 2003 Oct; 19 (8): 810-4.
7. **Burnham, R. & Martin, T. & Stein, R. & et all**, *Skeletal muscle fibre type transformation following spinal cord injury*, Spinal Cord, 1997 Feb; 35 (2): 86-91.
8. **Carlson, BM. & Borisov, AB. & Dedkov, EI. et all**, *Effects of long-term denervation on skeletal muscle in old rats*, J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2002 Oct; 57 (10): B366-74.
9. **Changeux JP**, *Functional organization of the nicotinic acetylcholine receptor* (review), C R Acad Sci III, 1992; 314 (9 Suppl): 89-94.
10. **Changeux JP, Galzi JL, Devillers-Thierry A, Bertrand D**, *The functional architecture of the acetylcholine nicotinic receptor explored by affinity labelling and site-directed mutagenesis*, Q Rev Biophys, 1992 Nov; 25 (4): 395-432.
11. **Croxen R, Young C, Salter C, Haslam S, Brydson M, Vincent A et al**, *End-plate gamma- and epsilon-subunit mRNA levels in AChR deficiency*

- syndrome due to epsilon-subunit null mutations*, Brain, 2001 Jul; 124 (Pt7): 1362-72.
12. **Czub S, Müller JG, Czub M, Müller-Hermelink HK**, *Nature and sequence of simian immunodeficiency virus-induced central nervous system lesions: a kinetic study*, Acta Neuropathol (Berl), 1996 Nov; 92(5): 487-98.
 13. **Delling U, Tureckova J, Lim HW, De Windt LJ, Rotwein P, Molkentin JD**, *A calcineurin-NFATc3-dependent pathway regulates skeletal muscle differentiation and slow myosin heavy-chain expression*, Mol Cell Biol, 2000 Sep; 20 (17): 6600-11.
 14. **DiMario JX, Funk PE**, *Protein kinase C activity regulates slow myosin heavy chain 2 gene expression in slow lineage skeletal muscle fibres*, Dev Dyn, 1999 Oct; 216 (2): 177-89.
 15. **Engel AG, Ohno K, Sine SM**, *Congenital myasthenic syndromes: A diverse array of molecular targets*, J Neurocytol., 2003 Jun-Sep; 32 (5-8): 1017-37.
 16. **Figarella-Branger D, Pellissier JF, Pouget J, Calore EE, Azulay JP, Desnuelle C et al**, *Inclusion body myositis and neuromuscular diseases with rimmed vacuoles (review)*, Rev Neurol, 1992; 148 (4): 281-90.
 17. **Fisher JS, Brown M**, *Immobilization effects on contractile properties of aging rat skeletal muscle*, Aging (Milano), 1998 Feb; 10 (1): 59-66.
 18. **Funakoshi H, Belluardo N, Arenas E, Yamamoto Y, Casabona A, Persson H et al**, *Muscle-derived neurotrophin-4 as an activity-dependent trophic signal for adult motor neurons*, Science, 1995 Jun 9; 268 (5216): 1495-9.
 19. **Gansen, H.K. & Irlenbusch, U**, *Die neuromuskuläre Insuffizienz der Rotatorenmanschette als Ursache des funktionellen Impingements - muskelbiologische Untersuchungen am Schultergelenk.*, Z Orthop Ihre Grenzgeb, 2002.
 20. **Gattenloehner S, Dockhorn-Dworniczak B, Leuschner I, Vincent A, Müller-Hermelink HK, Marx A**, *A comparison of MyoD1 and foetal ace-*

- tylcholine receptor expression in childhood tumours and normal tissus, J Mol Diagn, 1999 Nov; 1(1): 23-31.*
21. **Gattenloehner S, Vincent A, Leuschner I, Tzartos S, Müller-Hermelink HK, Kirchner T et al,** *The foetal form of the acetylcholine receptor distinguishes rhabdomyosarcomas from other childhood tumours,* Am J Pathol, 1998 Feb; 152 (2): 437-44.
 22. **Gattenlöhner, S. & Schneider, C. & Thamer, C. & et all,** *Expression of foetal type acetylcholine receptor is restricted to type 1 muscle fibres in human neuromuscular disorders,* The Brain, 2002 Jun; 125 (Pt6): 1309-19.
 23. **Geuder KI, Marx A, Witzemann V, Schalke B, Toyka K, Kirchner T et al,** *Pathogenic significance of foetal-type acetylcholine receptors on thymic myoid cells in myasthenia gravis,* Dev Immunol, 1992; 2 (2): 69-75.
 24. **Gohlke F,** *Biomechanics of the shoulde,* Orthopade, 2000 Oct, 29 (10): 834-44.
 25. **Hara H, Hayashi K, Ohta K, Itoh N, Ohta M,** *Nicotinic acetylcholine receptor mRNAs in myasthenic thymuses: association with intrathymic pathogenesis of myasthenia gravis,* Biochem Biophys Res Commun, 1993 Aug 16; 194 (3): 1269-75.
 26. **Hesselmans LF, Jennekens FG, Van den Oord CJ, Veldman H, Vincent A,** *Development of innervation of skeletal muscle fibres in man: relation to acetylcholine receptors,* Anat Rec, 1993 Jul; 236 (3): 553-62.
 27. **Heuss D, Engelhardt A, Gobel H, Neundorfer B,** *Myopathological findings in interstitial myositis in type II polyendocrine autoimmune syndrome (Schmidt`s syndrome),* Neurol Res, 1995 Jun; 17 (3): 233-7.
 28. **Horton RM, Manfredi AA, Conti-Tronconi BM,** *The `embryonic` gamma subunit of the nicotinic acetylchloine receptor is expressed in adult extraocular muscle,* Neurology, 1993 May; 43 (5): 983-6.
 29. **Ibebunjo C, Marty JA,** *Fiber atrophy, but not changes in acetylcholine receptor expression, contributes to the muscle dysfunction after immobilization,* Crit Care Med, 1999 Feb; 27 (2): 275-85.

30. **Jacobson L, Beeson D, Tzartos S, Vincent A**, *Monoclonal antibodies raised against human acetylcholine receptor bind to all five subunits of the foetal isoform*, J Neuroimmunol, 1999 Aug 3; 98 (2): 112-20.
31. **Jansen T, Thorns C, Oestern HJ**, *Anatomy of the shoulder joint*, Zentralbl Chir, 2001 Mar; 126 (3): 168-76.
32. **Johnson MA, Polgar J, Weightman D, Appleton D**, *Data on the distribution of fibre types in thirty-six human muscles. An autopsy study*, J Neurol Sci, 1973 Jan; 18 (1): 111-29.
33. **Kaminski HJ, Kusner LL, Block CH**, *Expression of acetylcholine receptor isoforms at extraocular muscle endplates*, Invest Ophthalmol Vis Sci, 1996 Feb; 37 (2): 345-51.
34. **Lexell J**, *Ageing and human muscle: observation from Sweden*, Can J Appl Physiol, 1993 Mar; 18 (1): 2-18.
35. **Lexell J**, *Human aging, muscle mass, and fiber typ composition*, J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 1995 Nov; 50 Spec No: 11-6.
36. **Lexell J, Downham D**, *What is the effect of ageing on type 2 muscle fibres?*, J Neurol Sci, 1992 Feb; 107 (2): 250-1.
37. **MacLennan, CA, Beeson, D, Buijs AM, Vincent A, Newsom-Davis J**, *Acethylcholine receptor expression in human extraocular muscles and their susceptibility to myasthenia gravis*, Ann Neurol, 1997 Apr; 41 (4): 423-31.
38. **MacLennan, CA. & Beeson, D. & Willcox, N. et all**, *Muscle nicotinic acetylcholine receptor mRNA expression in hyperplastic and neoplastic myasthenia gravis thymus*, Ann N Y Acad Sci, 1998 May 13; 841: 407-10.
39. **Marx A, Kirchner T, Hoppe F, O`Connor R, Schalke B, Tzartos S, et al**, *Proteins with epitopes of the acetylcholine receptor in epithelial cell cultures of thymomas in myasthenia gravis*, Am J Pathol, 1989 Apr; 134 (4): 865-77.
40. **Meislin RJ, Sperling JW, Stitik TP**, *Persistent shoulder pain: epidemiology, pathophysiology, and diagnosis*, Am J Orthop, 2005 Dec; 34 (12 suppl): 5-9.

41. **Mellon WJ, Misamore G, Snead DS, Denton P**, *The impact of preoperative smoking habits on the results of rotator cuff repair*, J Shoulder Elbow Surg 2004 Mar-Apr; 13 (2): 129-32.
42. **Metha S, Gimbel JA, Soslowsky LJ**, *Ethiologic and pathogenetic factors for rotator cuff tendinopathy*, Clin Sports Med 2003 Oct; 22 (4): 791-812
43. **Meyer DC, Hertel R**, *Prevention of pressure-induced skin ischemia and impending skin penetration in a displaced clavicle fracture*, Orthopedics 2005 Oct; 28 (10): 1151-2.
44. **Meyer DC, Pirkl C, Pfirrmann CW, Zanetti M, Gerber C**, *Asymmetric atrophy of the supraspinatus muscle following tendon tear*, Orthop res, 2005 Mar; 23 (2): 254-8.
45. **Miledi R, Zelena J**, *Sensitivity to acetylcholine in rat slow muscle*, Nature, 1966 May 21; 210 (38): 855-6.
46. **Minatel E, Santo Neto H, Marques MJ**, *Acetylcholine receptors and neuronal nitric oxide synthase distribution at the neuromuscular junction of regenerated muscle fibers*, Muscle Nerve, 2001 Mar; 24 (3): 410-6.
47. **Mishina M, Takai T, Imoto K, Noda M, Takahashi T, Numa S, et al**, *Molecular distinction between foetal and adult forms of muscle acetylcholine receptor*, Nature, 1986 May 22-28; 321 (6068): 406-11.
48. **Miyazawa A, Fujiyoshi Y, Unwin N**, *Structure and gating mechanism of the acetylcholine receptor pore*, Nature, 2003 Jun 26; 423 (6943): 949-55.
49. **Montgomery JM, Corfas G, Mills RG**, *Intracellular signaling molecules involved in an inhibitory factor-induced decrease in foetal-type AChR expression*, J Neurobiol, 2000 Feb 5; 42 (2): 190-201.
50. **Nichols, PP. & Beeson, DM**, *Control of gene expression of human muscle acetylcholine receptor*, Ann N Y Acad Sci, 1998 May 13; 841: 11-4.
51. **Olson EN, Williams RS**, *Calcineurin signaling and muscle remodeling*, Cell, 2000 Jun 23; 101 (7): 689-92.
52. **Poyhia TH, Nietosvaara YA, Remes VM, Kirjavainen MO, Peltonen JI, Lamminen AE**, *MRI of rotator cuff muscle atrophy in relation to gleno-*

- glenohumeral joint incongruence in brachial plexus birth injury*, *Pediatr Radiol*. 2005 Apr; 35 (4): 402-9.
53. **Rafael JA, Townsend ER, Squire SE, Potter AC, Chamberlain JS, Davies KE**, *Dystrophin and utrophin influence fiber type composition and post-synaptic membrane structure*, *Hum Mol Genet*, 2000 May 22; 9 (9): 1357-67.
54. **Round JM, Matthews Y, Jones DA**, *A quick, simple and reliable histochemical method for ATPase in human muscle preparations*, *Histochem J*, 1980 Nov; 12 (6): 707-10.
55. **Schroder JM, Adams RD**, *The ultrastructural morphology of the muscle fiber in myotonic dystrophy*, *Acta Neuropathol (Berl)*, 1968 Apr 8; 10 (3): 218-41.
56. **Strobel K, Hodler J, Meyer MC, Pfirrmann CW, Pirkl C, Zanetti M**, *Fatty atrophy of supraspinatus and infraspinatus muscles: accuracy of US*, *Radiology* 2005 Nov; 237 (2): 584-9
57. **Swoap SJ, Hunter RB, Stevenson EJ, Felton HM, Kansagra NV, Lang JM, et al.**, *The calcineurin-NFAT-pathway and muscle fiber-type gene expression*, *Am J Physiol Cell Physiology*, 2000 Oct; 279 (4): C15-24.
58. **Tovoshima C, Unwin N**, *Three-dimensional structure of the acetylcholine receptor by cryoelectron microscopy and helical image reconstruction*, *J Cell Biol*, 1990 Dec; 111 (6Pt 1): 2623-35.
59. **Tsay HJ, Schmidt J**, *Skeletal muscle denervation activates acetylcholine receptor genes*, *J Cell Biol*, 1989 Apr; 108 (4): 1523-6.
60. **Tsujihata M, Ito H, Satoh A, Yoshimura T, Motomura M, Nakamura T**, *Semiquantitative measurement of acetylcholine receptor at the motor end-plate in myasthenia gravis*, *Intern Med*, 2001 May; 40 (5): 376-81.
61. **Unwin N**, *Structure of the acetylcholine-gated channel*, *Norvatis Found Symp*, 2002; 245: 5-15.
62. **Unwin N**, *Refined structure of the nicotinic acetylcholine receptor at 4 Å resolution*, *J Mol Biol*, 2005 Mar 4; 346 (4): 967-89.

63. **Unwin N, Miyazawa A, Li J, Fujiyoshi Y**, *Activation of the acetylcholine receptor involves a switch in conformation of the alpha subunits*, J Mol Biol, 2002 Jun 21; 319 (5): 1165-76.
64. **Vincent A, Newsom-Davis J**, *Acetylcholine receptor antibody characteristics in myasthenia gravis. I. Patients with generalized myasthenia or disease restricted to ocular muscles*, Clin Exp Immunol, 1982.
65. **Wells DG, McKechnie BA, Kelkar S, Fallon JR**, *Neurotrophins regulate agrin-induced postsynaptic differentiation*, Proc Natl Acad Sci USA, 1999 Feb 2; 96 (3): 1112-7.
66. **Whiting PJ, Vincent A, Schluep M, Newsom-Davis J**, *Monoclonal antibodies that distinguish between normal and denervated human acetylcholine receptor*, J Neuroimmunol, 1986 May; 11 (3): 223-35.
67. **Witzemann V, Barg B, Nishikawa Y, Sakmann B, Numa S**, *Differential regulation of muscle acetylcholine receptor gamma- and epsilon-subunit mRNAs*, FEBS Lett, 1987 Oct 19; 223 (1): 104-12.
68. **Witzemann V, Brenner HR, Sakmann B**, *Neural factors regulate AChR subunit mRNAs at rat neuromuscular synapses*, J Cell Biol, 1991 Jul; 114 (1): 125-41.
69. **Witzemann V, Stein E, Barg B, Konno T, Koenen M, Kues W, et al.**, *Primary structure and functional expression of the alpha-, beta-, gamma-, delta- and epsilon-subunits of the acetylcholine receptor from rat muscle*, Eur J Biochem, 1990 Dec 12; 194 (2): 437-48.
70. **Wu H, Naya FJ, McKinsey TA, Mercer B, Shelton JM, Chin ER, et al.**, *MEF2 responds to multiple calcium-regulated signals in the control of skeletal muscle fiber type*, EMBO J, 2000 May 2; 19 (9): 1963-73.
71. **Yamane, A. & Saito, T. & Nakagawa, Y. et al.**, *Changes in mRNA expression of nicotinic acetylcholine receptor subunits during embryonic development of mouse masseter muscle*, Zoolog Sci, 2002 Feb; 19 (2): 207-13.
72. **Zhu X, Yeadon JE, Burden SJ**, *AML1 is expressed in skeletal muscle and is regulated by innervation*, Mol Cell Biol, 1994 Dec; 14 (12): 8051-7.

8. Anhang

1. Verwendete Chemikalien:

a) Guanidinium-Thiocyanat-Stock (GTC):

50 g Guanidinium-Thiocyanat

0,5 g Natrium-N-Lauroylsarcosine (Endkonzentration 0,5%)

25 mM Na-Citrat (2,5 ml aus 1M Stock pH 7,0)

0,1 M 2-Mercaptoethanol

0,1 % Antifoam A (333 μ l)

mit Wasser auf 100 ml auffüllen, pH mit 1 M NaOH auf 7,0 einstellen,
steril filtrieren, autoklavieren, kurz vor Gebrauch 1 M β -Mercaptoethanol
zugeben. (z.B. 70 μ l auf 10 ml Puffer)

Phenol

Chloroform

Natrium-Acetat 2M, pH 4,0

Isopropanol

70 % Ethanol

100 % Ethanol

DEPC-H²O

DTT 0,1mM

dNTP 10mM, 2,5mM

MgCl²

Agarosepulver

TBE-Puffer

Ethidiumbromid

Aqua dest

2. Enzyme:

a) Reverse Transkriptase:

SuperScript™ II von Life Technologies

Rnase H Reverse Transcriptase

Catalognummer: 18064-014

Lotnummer: 1072424

Size: 10,000 units

Konzentration: 200U/μl

b) RNAsin:

RNasin® Ribonuclease Inhibitor von Promega

Catalognummer N2111

System Lotnummer 126728

Size: 2,500 units

N211A Lotnummer 11422702

Konzentration: 40U/μl

c) Taq – Polymerase:

3. Lösung für die RNA – Isolierung:

GTC + Mercapto

Phenol

Chloroform

2M NaAcetat pH 4,0

Isopropanol

70 % Ethanol

DEPC – H₂O

4. cDNA – Synthese :

Oligo – dt

Random- Primer

RNA

1-Strangpuffer

0,1 M DTT

10 mM each dNTP

Reverse Transkriptase

RNAsin

5. PCR – Schema :

10 x Puffer

25 mM MgCl₂

2,5 mM each dNTP

Primer α up

Primer α lp

Primer γ up

Primer γ lp

Taq – Polymerase

H₂O

6. α - γ - PCR :

3 min 94 °C

30 sec 94 °C

30 sec 66 °C

30 sec 72 °C

7 min 72 °C

Forever 4°C

40 Zyklen

7. Agarose – Gel:

a) 2% - Agarose – Gel:

1,6 g Agarosepulver

80 ml ½ TBE – Puffer

4 μ l E. – Bromid

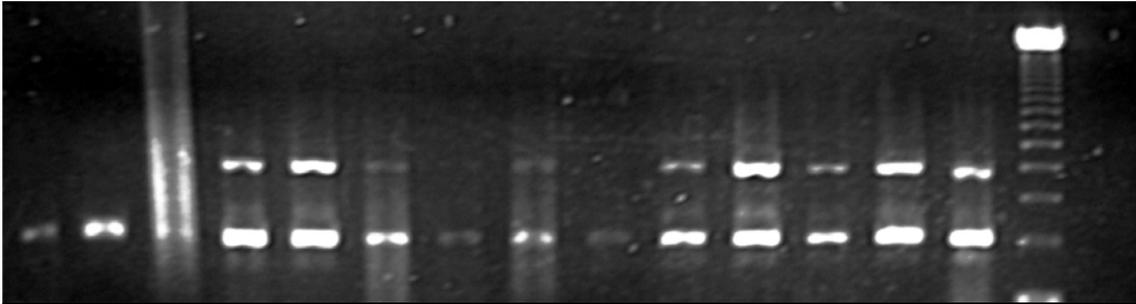
b) 1,5 % - Agarose – Gel:

1,2 g Agarose – Gel

80 ml ½ TBE – Puffer

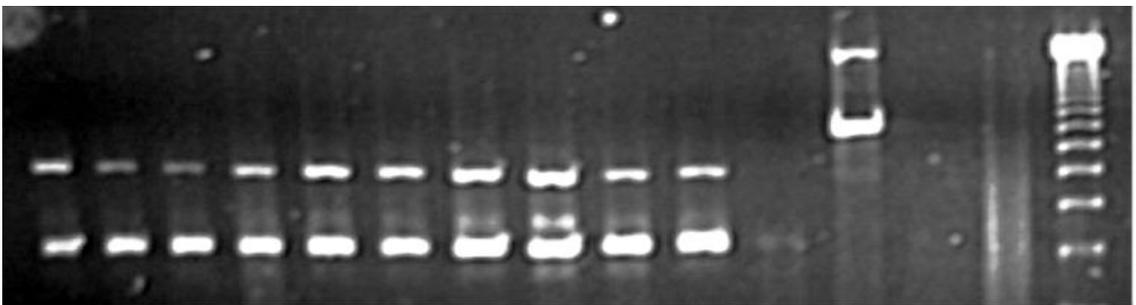
4 μ l Ethidium-Bromid

8. Ethidiumbromid-Agarose-Gele:



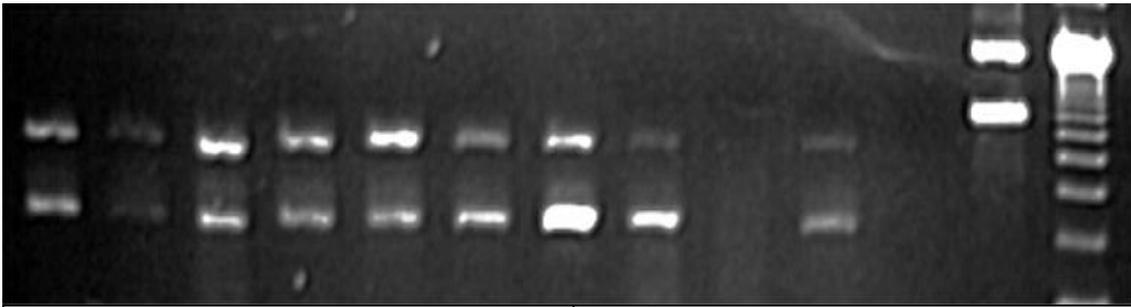
1	21297/00, Probe 1
2	21297/00, Probe 2
3	21304/00, Probe 1
4	21304/00, Probe 2
5	22474/00, Probe 1
6	22474/00, Probe 2
7	22475/00, Probe 1
8	22475/00, Probe 2
9	22760/00, Probe 1
10	22760/00, Probe 2
11	22828/00
12	22952/00, Probe 1
13	22952/00, Probe 2
14	Positiv-Kontrolle
15	Marker
16	Negativ-Kontrolle

Abb. Agarose-Gel, 30.11.00



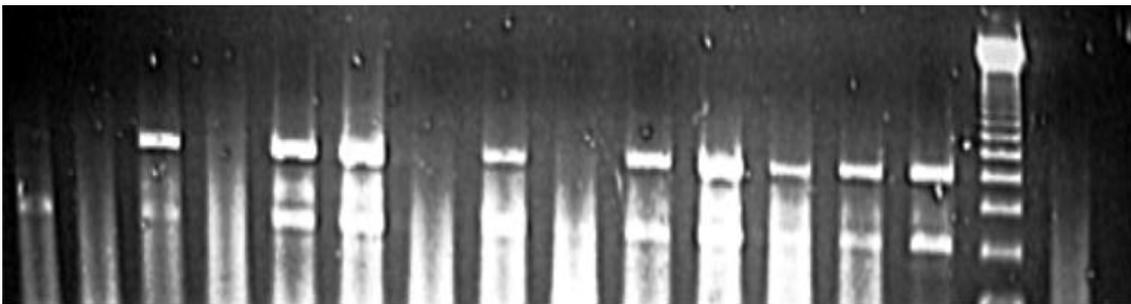
1	25470/00, Probe 1
2	25470/00, Probe 2
3	25471/00, Probe 1
4	25471/00, Probe 2
5	25472/00, Probe 1
6	25472/00, Probe 2
7	25586/00, Probe 1
8	25586/00, Probe 2
9	25710/00, Probe 1
10	25710/00, Probe 2
11	
12	Positiv Kontrolle
13	
14	Negativ Kontrolle
15	Marker

Abb. Agarose-Gel, 18.12.00-1



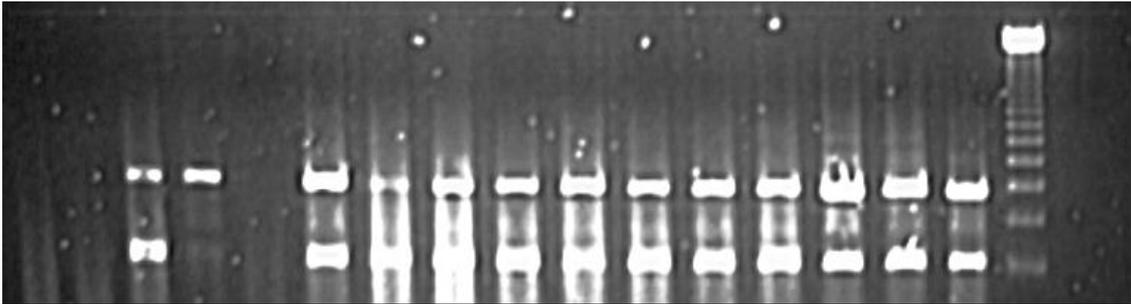
1	25711/00, Probe 1
2	25711/00, Probe 2
3	26153/00, Probe 1
4	26153/00, Probe 2
5	26153/00, Probe 3
6	26267/00, Probe 1
7	26267/00, Probe 2
8	26709/00, Probe 1
9	26709/00, Probe 2
10	26775/00, Probe 1
11	26775/00, Probe 2
12	Positiv Kontrolle
13	Marker

Agarose-Gel, 23.01.01



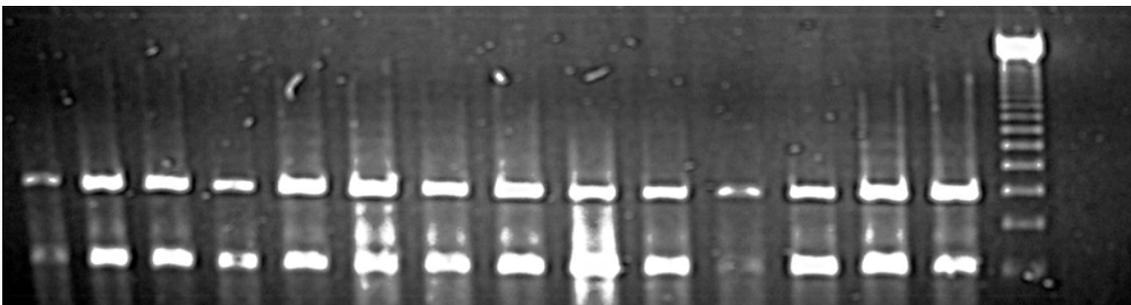
1	29806/00, Probe 1
2	29806/00, Probe 2
3	29807/00, Probe 1
4	29807/00, Probe 2
5	30000/00, Probe 1
6	30000/00, Probe 2
7	30199/00
8	30200/00, Probe 1
9	30200/00, Probe 2
10	30200/00, Probe 3
11	30200/00, Probe 4
12	30200/00, Probe 5
13	30200/00, Probe 6
14	Positiv Kontrolle
15	Marker
16	Negativ Kontrolle

Agarose-Gel, 26.04.01



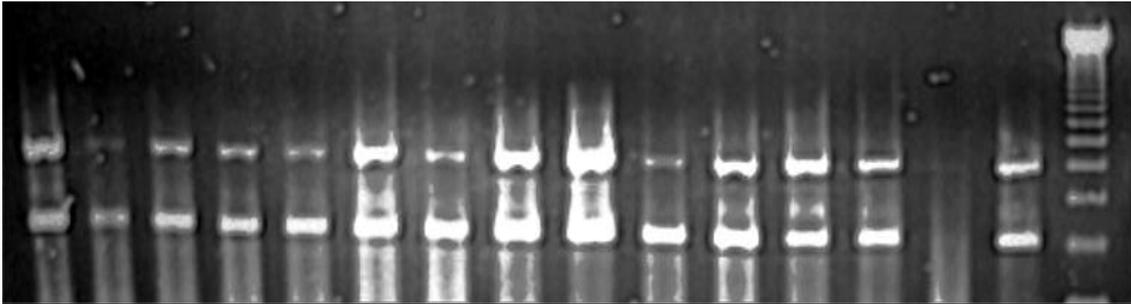
1	8809/01, Probe 1b
2	8809/01, Probe 2°
3	29806/00, Probe 2
4	29807/00, Probe 2
5	31199/00
6	30201/00, Probe 1
7	30201/00, Probe 2
8	30458/00, Probe 1
9	30458/00, Probe 2
10	30661/00, Probe 1
11	30661/00, Probe 2
12	30775/00, Probe 1
13	30775/00, Probe 2
14	31109/00, Probe 1
15	31109/00, Probe 2
16	Positiv Kontrolle (26155/00)
17	Marker
18	Negativ Kontrolle

Agarose-Gel, 14.05.01



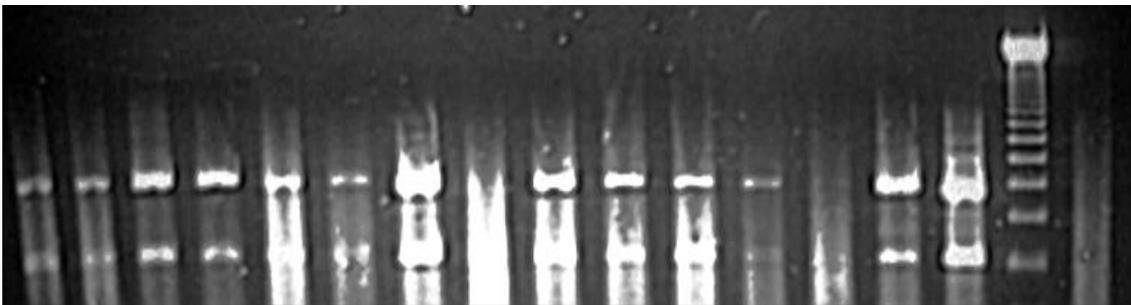
1	31221/00, Probe 1
2	31221/00, Probe 2
3	31221/00, Probe 3
4	72/01, Probe 1
5	72/01, Probe 2
6	849/01, Probe 1
7	849/01, Probe 2
8	895/01, Probe 1
9	895/01, Probe 2
10	983/01
11	3143/01, Probe 1
12	3143/01, Probe 2
13	Positiv Kontrolle
14	Marker
15	Negativ Kontrolle

Agarose-Gel, 14.05.01-2



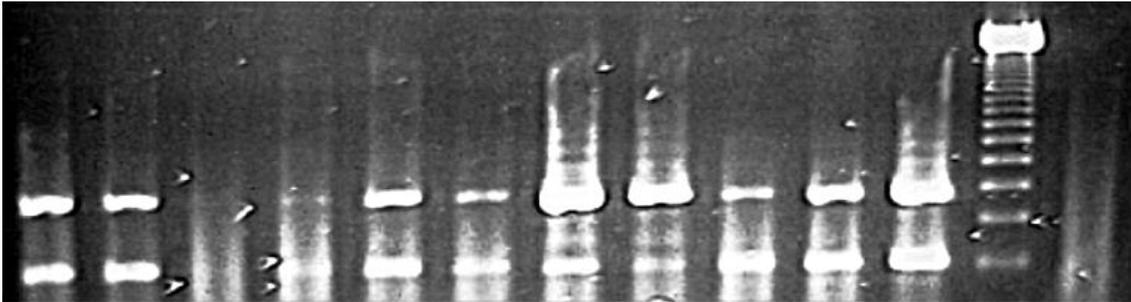
1	3144/01, Probe 1
2	3144/01, Probe 2
3	3144/01, Probe 3
4	3408/01, Probe 1
5	3408/01, Probe 2
6	3869/01, Probe 1
7	3869/01, Probe 2
8	4099/01, Probe 1
9	4099/01, Probe 2
10	4265/01, Probe 1
11	4265/01, Probe 2
12	4523/01, Probe 1
13	4523/01, Probe 2
14	12055/01
15	Positiv Kontrolle (3143/01, Probe 2)
16	Marker

Agarose-Gel, 16.05.01



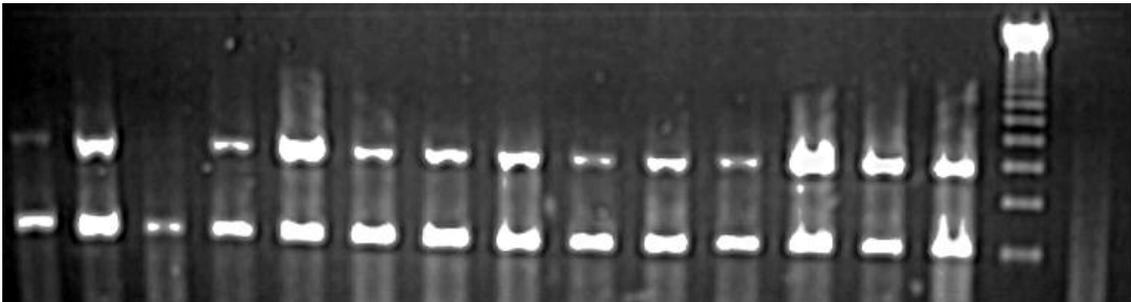
1	5158/01, Probe 1
2	5158/01, Probe 2
3	5194/01, Probe 1
4	5194/01, Probe 2
5	5195/01, Probe 1
6	5195/01, Probe 2
7	5435/01, Probe 1
8	5435/01, Probe 2
9	5814/01, Probe 1
10	5814/01, Probe 2
11	5942/01, Probe 1
12	5942/01, Probe 2
13	6115/01, Probe 1
14	6115/01, Probe 2
15	Positiv Kontrolle (3143/01, Probe 2)
16	Marker
17	Negativ Kontrolle

Agarose-Gel, 23.05.01-1



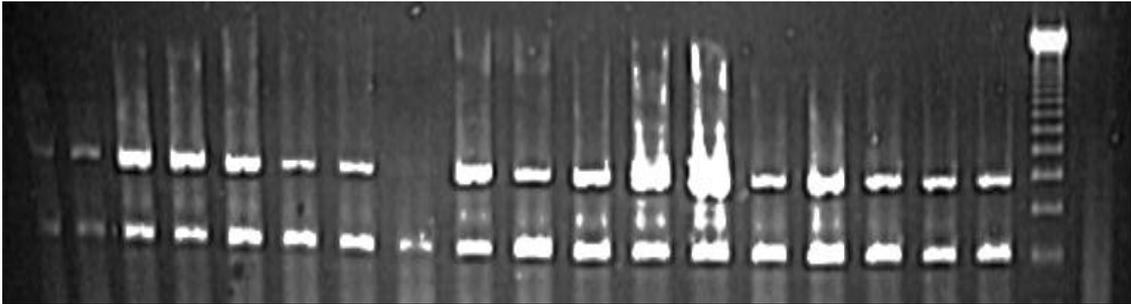
1	6325/01, Probe 1
2	6325/01, Probe 2
3	6436/01, Probe 1
4	6436/01, Probe 2
5	6739/01, Probe 1
6	6739/01, Probe 2
7	7016/01, Probe 1
8	7016/01, Probe 2
9	7145/01, Probe 1
10	7145/01, Probe 2
11	Positiv Kontrolle (3143/01, Probe 2)
12	Marker
13	Negativ Kontrolle

Agarose-Gel, 23.05.01-2



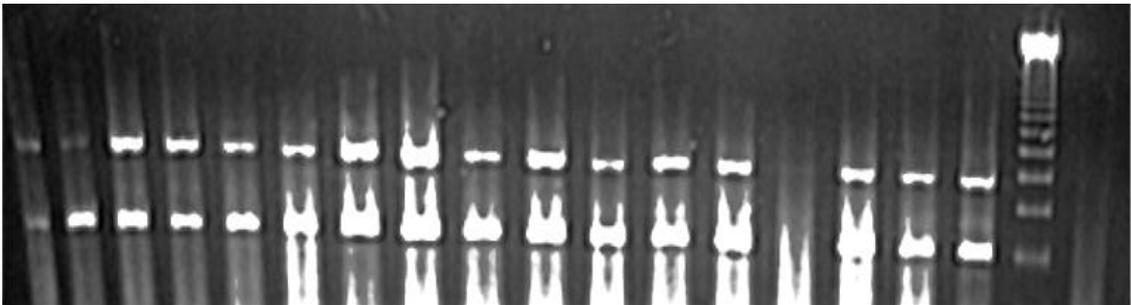
1	5942/01, Probe 2
2	6115/01, Probe 1
3	6436/01, Probe 1
4	6436/01, Probe 2
5	7018/01
6	7146/01, Probe 1
7	7146/01, Probe 2
8	7334/01, Probe 1
9	7334/01, Probe 2
10	7335/01, Probe 1
11	7335/01, Probe 2
12	7749/01, Probe 1
13	7749/01, Probe 2
14	Positiv Kontrolle (5435/01, Probe 1)
15	Marker
16	Negativ Knotrolle

Agarose-Gel, 20.06.01-3



1	9290/01, Probe 1
2	9290/01, Probe 2
3	9869/01, Probe 1
4	9869/01, Probe 2
5	10597/01, Probe 1
6	10597/01, Probe 2
7	10978/01, Probe 1
8	10978/01, Probe 2
9	10879/01
10	11000/01, Probe 1
11	11000/01, Probe 2
12	11234/01, Probe 1
13	11234/01, Probe 2
14	11239/01, Probe 1
15	11239/01, Probe 2
16	11240/01, Probe 1
17	11240/01, Probe 2
18	Positiv Kontrolle (7749/01 Probe 1)
19	Marker
20	Negativ Kontrolle

Agarose-Gel, 27.06.01



1	11491/01, Probe 1
2	11491/01, Probe 2
3	12581/01, Probe 1
4	12581/01, Probe 2
5	13283/01, Probe 1
6	13283/01, Probe 2
7	13404/01, Probe 1
8	13404/01, Probe 2
9	13551/01, Probe 1
10	13551/01, Probe 2
11	14071/01, Probe 1
12	14071/01, Probe 2
13	14072/01, Probe 1
14	14072/01, Probe 2

15	14183/01, Probe 1
16	14183/01, Probe 2
17	Positiv Kontrolle (11239/01, Probe 2)
18	Marker
19	Negativ Kontrolle

Agarose-Gel, 02.07.01

9. Ergebnis-Tabelle:

Einlauf- Nummer (E-Nr.)	Alter	Geschlecht	Biopsierter Muskel	Gamma / alpha - Ratio	Alpha / gamma - Ratio
15031 / 00	34	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	1,43 2,5	0,7 0,4
15260 / 00	59	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	n.a. n.a.	n.a. n.a.
15613 / 00	30	W	1. M. latissimus dorsi a) 2. M. latissimus dorsi b) 3. M. trapezius 4. M. subscapularis 5. M. infraspinatus	0,43 0,71 0,9 0,5 0,5	2,3 1,4 1,1 1,9 1,9
13841 / 00	56	W	1. M. supraspinatus	0,5	2,0
16246 / 00	60	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,56 0,2	1,8 4,9
16575 / 00	58	W	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,28 0,48	3,6 2,1
16635 / 00	58	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	n.a. 0,43	n.a. 2,3
16855 / 00	64	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,43 0,25	2,3 3,9
17105 / 00	62	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,3 0,13	3,3 7,7
17350 / 00	42	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,17 n.a.	5,9 n.a.
18135 / 00	44	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	1,43 1	0,7 1,0
18280 / 00	54	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,43 0,23	2,3 4,4
16997 / 00	58	M	1. M. supraspinatus 2. M. subscapularis 3. M. deltoideus	0,5 0,25 0,56	2,02 4,01 1,8
10853 / 00	59	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,32 n.a.	3,1 n.a.
17615 / 00	56	M	1. M. deltoideus 2. M. subscapularis	0,7 n.a.	1,4 n.a.
17878 / 00	69	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,3 0,83	3,0 1,2
17879 / 00	61	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	n.a. 0,67	n.a. 1,5
17880 / 00	51	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,67 n.a.	1,5 n.a.
18419 / 00	63	M	1. M. subscapularis 2. M. deltoideus	n.a. 0,14	n.a. 7,3
18618 / 00	59	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,14 0,16	7,4 6,4

18688 / 00	73	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,27 0,63	3,7 1,6
18948 / 00	55	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,19	5,3
19306 / 00	64	W	1. M. ?	0,38	2,6
19424 / 00	45	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,26 0,37	3,9 2,7
19658 / 00	41	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,67 0,14	1,5 7,1
19488 / 00	49	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,18 0,28	5,5 3,6
20046 / 00	57	M	1. M. supraspinatus 2. M deltoideus	0,29 0,77	3,4 1,3
20280 / 00	34	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,43 0,59	2,3 1,7
21094 / 00	54	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,59 0,24	1,7 4,1
21214 / 00	54	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,62 0,59	1,6 1,7
21297 / 00	68	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,59 0,56	1,7 1,8
21304 / 00	57	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,62 1,25	1,6 0,8
22474 / 00	60	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,83 0,83	1,2 1,2
22475 / 00	63	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	1,02 0,77	0,98 1,3
22760 / 00	51	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,67 0,36	1,5 2,8
22828 / 00	38	W	1. M. supraspinatus	0,4	2,5
22952 / 00	66	W	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,59 0,5	1,7 2,0
23285 / 00	64	W	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,71 0,77	1,4 1,3
23286 / 00	57	W	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,77 0,71	1,3 1,4
23287 / 00	64	M	1. M. deltoideus 2. supraspinatus	0,83 0,62	1,2 1,6
23403 / 00	60	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus 3. PE Schulter	0,56 0,59 n.a.	1,8 1,7 n.a.
23404 / 00	50	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,62 n.a.	1,6 n.a.
23666 / 00	57	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,65 0,34	1,55 2,97
24005 / 00	42	W	1. M. deltoideus 2. M. ?	0,28 0,49	3,52 2,04
24219 / 00	55	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,6 0,56	1,65 1,79
25198 / 00	41	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,63 0,7	1,59 1,42
25345 / 00	53	W	1. M. supraspinatus	0,39	2,55

			2. M. deltoideus	0,41	2,44
25470 / 00	55	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,28 n.a.	3,62 n.a.
25471 / 00	52	W	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	n.a. 0,81	n.a. 1,23
25472 / 00	70	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,79 n.a.	1,27 n.a.
25586 / 00	58	W	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,51 n.a.	1,96 n.a.
25710 / 00	55	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,62 0,9	1,61 1,11
25711 / 00	61	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	n.a. n.a.	n.a. n.a.
26153 / 00	49	M	1. M. deltoideus 2. M. infraspinatus 3. M. subscapularis	0,96 1,04 1,27	1,04 0,96 0,79
26267 / 00	78	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	1,04 1,14	0,96 0,88
26709 / 00	66	M	1. M. deltoideus	2,22	0,45
26775 / 00	68	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	n.a. 2,13	n.a. 0,47
26877 / 00	60	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	n.a. 0,073	n.a. 13,65
27269 / 00	55	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,3 0,4	3,37 2,49
28175 / 00	57	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,38 0,21	2,65 4,75
28176 / 00	35	M	1. M. deltoideus	0,78	1,28
28499 / 00	65	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,85 0,91	1,18 1,10
29085 / 00	56	M	1. M. supraspinatus	0,45	2,20
29227 / 00	23	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus 3. M. infraspinatus	0,73 0,49 0,47	1,37 2,06 2,13
29228 / 00	53	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,4 0,23	2,50 4,35
29380 / 00	52	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,37 0,86	2,67 1,16
29381 / 00	56	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,6 0,93	1,65 1,07
29649 / 00	55	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	n.a. n.a.	n.a. n.a.
29806 / 00	58	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,26 n.a.	3,84 n.a.
29807 / 00	59	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	1,18 n.a.	0,85 n.a.
30000 / 00	58	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	1,05 0,95	0,95 1,05
30199 / 00	49	M	1. M. deltoideus	n.a.	n.a.
30200 / 00	52	M	1. M. infraspinatus 2. M. deltoideus 3. M. teres major	0,48 0,27 0,77	2,1 3,73 1,3

			4. M. teres minor	0,96	1,14
			5. M. latissimus dorsi	0,5	2,01
			6. M. supraspinatus	0,99	1,01
30201 / 00	44	W	1. M. deltoideus	1,51	0,66
			2. M. supraspinatus	0,4	2,5
30458 / 00	50	W	1. M. supraspinatus	0,72	1,38
			2. M. deltoideus	0,76	1,31
30661 / 00	54	M	1. M. deltoideus	1,64	0,61
			2. M. supraspinatus	0,64	1,56
30775 / 00	51	M	1. M. deltoideus	1,12	0,89
			2. M. supraspinatus	0,88	1,14
31109 / 00	66	M	1. M. supraspinatus	1,22	0,82
			2. M. infraspinatus	1,37	0,73
			3. M. deltoideus	1,12	0,89
31221 / 00	49	M	1. M. supraspinatus	1,16	0,86
			2. M. deltoideus	1,28	0,78
			3. M. subscapularis	1,09	0,92
72 / 01	66	M	1. M. supraspinatus	1,54	0,65
			2. M. ?	1,54	0,65
849 / 01	55	M	1. M. deltoideus	1,32	0,76
			2. M. supraspinatus	0,99	1,01
895 / 01	69	M	1. M. supraspinatus	0,62	1,6
			2. M. deltoideus	0,85	1,17
983 / 01	64	M	1. M. deltoideus	1,02	0,98
3143 / 01	72	W	1. M. supraspinatus	0,74	1,36
			2. M. deltoideus	0,96	1,04
3144 / 01	54	W	1. M. subscapularis	0,95	1,05
			2. M. supraspinatus	0,44	2,26
			3. M. deltoideus	0,48	2,08
3408 / 01	48	W	1. M. supraspinatus	0,44	2,27
			2. M. deltoideus	0,3	2,9
3869 / 01	76	M	1. M. supraspinatus	0,83	1,2
			2. M. deltoideus	0,34	2,86
4099 / 01	49	M	1. M. deltoideus	0,8	1,25
			2. M. supraspinatus	0,94	1,06
4265 / 01	58	M	1. M. deltoideus	0,3	3,3
			2. M. supraspinatus	0,72	1,38
4523 / 01	58	M	1. M. deltoideus	1,04	0,96
			2. M. supraspinatus	0,75	1,33
5158 / 01	52	M	1. M. supraspinatus	0,72	1,38
			2. M. deltoideus	0,79	1,27
5194 / 01	62	W	1. M. deltoideus	1,45	0,69
			2. M. supraspinatus	1,79	0,56
5195 / 01	59	M	1. M. supraspinatus	0,69	1,44
			2. M. deltoideus	0,69	1,45
5435 / 01	72	W	1. M. supraspinatus	1,04	0,96
			2. M. deltoideus	0,42	2,36
5814 / 01	48	M	1. M. supraspinatus	0,79	1,27
			2. M. deltoideus	0,85	1,18
5942 / 01	69	W	1. M. supraspinatus	0,58	1,71
			2. M. deltoideus	0,22	4,52
6115 / 01	53	M	1. M. deltoideus	0,74	1,35

			2. M. supraspinatus	1,79	0,56
6325 / 01	62	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	1,41 0,88	0,71 1,13
6436 / 01	50	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,38 0,54	2,63 1,86
6739 / 01	74	W	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,98 n.a.	1,02 n.a.
7016 / 01	52	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	2,22 3,57	0,45 0,28
7018 / 01	67	W	1. M. vastus medialis	1,19	0,84
7145 / 01	73	W	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,45 0,86	2,23 1,16
7146 / 01	46	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,5 0,63	1,98 1,58
7334 / 01	62	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,76 0,63	1,32 1,58
7335 / 01	61	W	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,61 0,43	1,65 2,3
7749 / 01	61	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	1,2 1,18	0,83 0,85
7890 / 01	41	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	1,15 1,59	0,87 0,63
8187 / 01	57	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,37 0,36	2,69 2,79
8329 / 01	41	M	1. M. infraspinatus 2. M. deltoideus	0,61 0,29	1,65 3,39
8462 / 01	56	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	1,14 1,32	0,88 0,76
9290 / 01	56	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,65 0,97	1,54 1,03
9869 / 01	56	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	1,56 1,67	0,64 0,60
10597 / 01	59	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,99 0,61	1,01 1,65
10978 / 01	51	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,7 0,45	1,43 2,20
10979 / 01	54	M	1. M. deltoideus	1,23	0,81
11000 / 01	48	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,65 0,91	1,55 1,10
11234 / 01	64	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	1,32 1,43	0,76 0,70
11239 / 01	25	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,74 0,95	1,36 1,05
11240 / 01	64	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,74 0,76	1,35 1,32
11481 / 01	39	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,63 0,18	1,6 5,5
12581 / 01	47	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,85 0,97	1,18 1,03
13283 / 01	56	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,55 0,55	1,82 1,83

13404 / 01	57	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,87 0,79	1,15 1,27
13551 / 01	67	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,53 0,79	1,9 1,27
14071 / 01	63	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,47 0,69	2,15 1,44
14072 / 01	50	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,59 0,81	1,69 1,23
14183 / 01	59	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,56 0,59	1,78 1,69
14314 / 01	56	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,78 0,45	1,28 2,20
14682 / 01	54	W	1. M. deltoideus 2. M. subscapularis	0,49 0,53	2,06 1,88
14957 / 01	64	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	1,15 0,97	0,87 1,03
15075 / 01	64	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,77 0,77	1,30 1,30
15076 / 01	55	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,85 1,09	1,18 0,92
15209 / 01	52	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,88 1,18	1,13 0,85
16796 / 01	54	W	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,39 0,41	2,55 2,42
17616 / 01	51	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	1,32 0,61	0,76 1,63
18031 / 01	64	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	n.a. 1,15	n.a. 0,87
18332 / 01	67	W	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,93 0,74	1,07 1,36
18333 / 01	69	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,75 0,51	1,34 1,96
18450 / 01	78	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,83 0,69	1,20 1,45
18501 / 01	61	M	1. M. supraspinatus 2. M. infraspinatus 3. M. deltoideus	n.a. 1,16 1,39	n.a. 0,86 0,72
18856 / 01	61	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,2 0,94	5,0 1,06
18857 / 01	62	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,71 0,31	1,40 3,26
18965 / 01	57	W	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,78 n.a.	1,28 n.a.
19422 / 01	41	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,25 0,28	4,08 3,53
20712 / 01	50	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,81 0,93	1,23 1,08
20713 / 01	56	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,88 0,48	1,14 2,1
21084 / 01	50	M	1. M. infraspinatus 2. M. teres minor 3. M. deltoideus	0,43 0,85 1	2,35 1,17 1,0

			4. M. supraspinatus	0,48	2,07
21538 / 01	64	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,68 n.a.	1,47 n.a.
21539 / 01	68	M	1. M. supraspinatus 2. M. deltoideus	0,34 0,61	2,95 1,65
21544 / 01	63	W	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,47 n.a.	2,12 n.a.
21902 / 01	52	M	1. M. deltoideus 2. M. supraspinatus	0,98 0,81	1,02 1,23
22124 / 01	55	M	1. M deltoideus 2. M. supraspinatus	0,6 0,67	1,67 1,50

Statistik:

Korrelationen

		Gamma /alpha ratio M. supraspinatus	Gamma /alpha ratio M. deltoideus	Alter
Gamma/alpha ratio M. supraspinatus	Korrelation nach Pearson	1	,650(**)	,031
	Signifikanz (2-seitig)		,000	,735
	N	125	112	125
alphagamma ratio M. deltoideus	Korrelation nach Pearson	,650(**)	1	,010
	Signifikanz (2-seitig)	,000		,912
	N	112	134	134
Alter	Korrelation nach Pearson	,031	,010	1
	Signifikanz (2-seitig)	,735	,912	
	N	125	134	153

** Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

Deskriptive Statistik

Geschlecht Männer

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Gamma/Alpha Ratio M. deltoideus	93	,07	2,50	,7765	,44979
Gamma/Alpha Ratio M. supraspinatus	85	,14	1,79	,7456	,35575
Gültige Werte	78				

Geschlecht Frauen

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Gamma/Alpha Ratio M. deltoideus	41	,20	3,57	,7207	,57572
Gamma/Alpha Ratio M. supraspinatus	40	,17	2,22	,6838	,39158
Gültige Werte	34				

Nervale Läsionen

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Gamma/Alpha Ratio M. deltoideus	4	,62	2,13	1,1625	,67786
Gamma/Alpha Ratio M. supraspinatus	2	,88	,90	,89	,01414
Gültige Werte	2				

Entzündliche Läsionen

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Gamma/Alpha Ratio M. deltoideus	5	,30	,85	,5860	,20720
Gamma/Alpha Ratio M. supraspinatus	6	,14	,91	,5517	,27701
Gültige Werte	5				

Degenerative Läsionen

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Gamma/Alpha Ratio M. deltoideus	42	,07	3,57	,7191	,63583
Gamma/Alpha Ratio M. supraspinatus	38	,14	2,22	,7274	,46777
Gültige Werte	34				

Entzündlich-degenerative Läsionen

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Gamma/Alpha Ratio M. deltoideus	17	,13	1,64	,6906	,39102
Gamma/Alpha Ratio M. supraspinatus	19	,19	1,79	,6932	,40609
Gültige Werte	16				

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Carolin Niethammer
Geburtsdatum: 30. Juni 1977
Geburtsort: Mühlacker
Staatsangehörigkeit: deutsch
Konfession: römisch-katholisch
Familienstand: ledig

Schulbildung

1984 – 1988 Wendler-Grundschule Mühlacker-Lomersheim
1988 – 1997 Theodor-Heuss-Gymnasium Mühlacker
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Hochschulausbildung

10/1997 – 07/1999 Vorklinisches Studium,
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
10/1999 – 10/2003 Klinisches Studium,
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
09/1999 Ärztliche Vorprüfung
03/2001 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
09/2002 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
10/2003 Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Promotion:

Seit 2000 Im Pathologischen Institut der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Thema: „Semi quantitative Bestimmung der Expression des fetalen Acetylcholinrezeptors im Musculus

Danksagung

Allen voran danke ich Herrn Prof. Dr. med. A. Marx für die Überlassung des Themas und die gewährte Möglichkeit, die Arbeit im Pathologischen Institut der Universität Würzburg anzufertigen.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. S. Gattenlöhner danke ich von Herzen für die freundliche Aufnahme in seiner Arbeitsgruppe, die zahlreichen und sehr wertvollen Hilfestellungen und die allzeit hervorragende Zusammenarbeit.

Besonderer Dank gebührt Frau M. Bonengel, ohne deren tägliche Unterstützung diese Arbeit nicht denkbar gewesen wäre.

Ebenfalls bedanke ich mich bei Prof. Dr. med. F. Gohlke für die freundliche Bereitstellung der untersuchten Biopsate.

Mein herzlichster Dank gilt meinen Eltern, die mir mein Studium ermöglicht haben und für ihre liebevolle Unterstützung in allen Dingen.

Meinen Schwestern danke ich für die tatkräftige Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Promotionsarbeit und für die Motivation.