

Aus der Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Univ. Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Morphin und Morphin-Derivate in Kombination mit
Corticosteroiden als Alternative zu Lokalanästhetika
vom Amid-Typ – Vergleich der zytotoxischen Wirkung
auf humane Tenozyten *in vitro*

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Anne Lene Oeyen

2024

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Jörn Kircher

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Detlef Kindgen-Milles

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Oeyen A. L., Kircher J., Vogl M., Ickert I., Osada N., Krauspe R., Bittersohl B., Herten M., (2022) Dexamethasone Does not Compensate for Local Anesthetic Cytotoxic Effects on Tenocytes: Morphine or Morphine Plus Dexamethasone May Be a Safe Alternative. *Arthroscopy, Sports Medicine, and Rehabilitation*, (Vol 4, No 2 (April)) pp e459-e469.

Zusammenfassung

Für Lokalanästhetika vom Amid-Typ haben sich Hinweise auf zytotoxische Eigenschaften ergeben. Im Rahmen dieser *in vitro*-Studie sollte geprüft werden, ob dieser Effekt durch Dexamethason vermindert werden kann. Ferner wurde untersucht, ob Morphin oder dessen Metabolit Morphin-6-Glucuronid als sichere Alternativen für Bupivacain oder Ropivacain dienen können; dies insbesondere im Hinblick auf die peritendinöse Anwendung.

Zu diesem Zweck wurden aus humanen Bizeps-Sehnen (n=6) Tenozyten gewonnen und mit Bupivacain (0,5 %), Ropivacain (0,75 %), Morphin (0,05 %), Morphin-6-Glucuronid (0,05 %) oder Kochsalzlösung (0,09 %) inkubiert. Hierbei wurde der Effekt auf die Zellen (Vitalität) nach 15, 60 und 240 Minuten untersucht (jeweils mit und ohne Zugabe von Dexamethason 0,023 %).

Nach 15, 60 und 240 Minuten verminderte sich die Vitalität signifikant auf 81,1 %, 49,4 % und 0,0 % mit Bupivacain bzw. auf 81,4 %, 69,6 % und 9,3 % mit Ropivacain. Dieser Effekt konnte durch Dexamethason nicht kompensiert werden. Vielmehr nahm die Vitalität der Tenozyten nach 15 Minuten weiter ab auf 50,1 % (Dexamethason und Bupivacain) bzw. 69,5 % (Dexamethason und Ropivacain). Nach 60 und 240 Minuten war keine weitere signifikante Abnahme der Vitalität zu beobachten. Morphin und Morphin-6-Glucuronid hatten nach Inkubation von 15 und 60 Minuten keinen signifikanten Einfluss auf die Vitalität. Eine signifikante Abnahme konnte nach 240 Minuten beobachtet werden (Morphin: 78,6 % und Morphin-6-Glucuronid: 86,1 %). Die gleichzeitige Inkubation von Dexamethason konnte diesen Effekt komplett aufheben.

Morphin und Morphin-6-Glucuronid können als sichere Alternative für Lokalanästhetika bei der peritendinösen Applikation betrachtet werden. Der geringe zytotoxische Effekt kann ggf. durch die gleichzeitige Gabe von Dexamethason aufgehoben werden. Im Rahmen weiterer Studien sollte die klinische Relevanz untersucht werden, insbesondere im Hinblick auf die Analgesie.

Abstract

There is evidence of cytotoxic properties of amide-type local anesthetics. The aim of this *in vitro* study was to determine whether this effect can be compensated by dexamethasone. It was also investigated whether morphine or its metabolite morphine-6-glucuronide could serve as safe alternatives to bupivacaine or ropivacaine for peritendinous use.

For this purpose, tenocytes were obtained from human biceps tendons (n=6) and incubated with bupivacaine (0.5%), ropivacaine (0.75%), morphine (0.05%), morphine-6-glucuronide (0.05%) or saline (0.09%). The effect on the cells (vitality) was examined after 15, 60 and 240 minutes (in each case with and without the addition of dexamethasone 0.023 %).

Incubation of 15, 60, and 240 minutes decreased vitality to 81.1%, 49.4%, and 0.0% (bupivacaine) and to 81.4%, 69.6%, and 9.3% (ropivacaine), respectively. This effect could not be compensated by dexamethasone. Instead, vitality was further decreased after 15 minutes to 50.1% (dexamethasone & bupivacaine) and 69.5% (dexamethasone & ropivacaine). No further significant decrease in vitality was observed after 60 and 240 minutes. Morphine and morphine-6-glucuronide had no significant effect on viability after incubation for 15 and 60 minutes. A significant decrease was observed after 240 minutes (morphine: 78.6% and morphine-6-glucuronide: 86.1%). Simultaneous incubation of dexamethasone completely abolished this effect.

Morphine and morphine-6-glucuronide may serve as safe alternatives for local anesthetics in peri-tendinous application. The low cytotoxic effect may be reversed by the concomitant administration of dexamethasone. Further studies are needed to investigate the clinical relevance, especially analgetic effects.

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
1.1	Hintergrund.....	1
1.2	Lokalanästhesie	2
1.3	Opiate.....	5
1.4	Toxizität von Lokalanästhetika	6
1.5	Ziele der Arbeit.....	11
2	DEXAMETHASONE DOES NOT COMPENSATE FOR LOCAL ANESTHETIC CYTOTOXIC EFFECTS ON TENOCYTES: MORPHINE OR MORPHINE PLUS DEXAMETHASONE MAY BE A SAFE ALTERNATIVE, OEYEN A. L., KIRCHER J., VOGL M., ICKERT I., OSADA N., KRAUSPE R., BITTERSÖHL B., HERTEN M., <i>ARTHROSCOPY, SPORTS MEDICINE, AND REHABILITATION</i>, (VOL 4, NO 2 (APRIL)) PP E459-E469 (2022).	12
3	DISKUSSION.....	13
3.1	Bupivacain und Ropivacain	13
3.2	Glukokortikoide.....	15
3.3	Lokalanästhetika und Glukokortikoide	18
3.4	Morphin	20
3.5	Schlussfolgerung und Ausblick.....	23
4	LITERATURVERZEICHNIS	28

1 Einleitung

1.1 Hintergrund

Lokalanästhetika (ggf. in Kombination mit anderen lokal wirksamen Präparaten) werden zur Behandlung von muskuloskelettalen Schmerzen und Entzündungen appliziert, meist in der Nähe zu Gelenken oder Ligamenten (Sehnen, Bänder), und oftmals auch in die Gelenkkapsel direkt (intraartikulär). Im Falle der postoperativen Analgesie unterstützt dies eine rasche Mobilisierung und eine Verkürzung des stationären Aufenthalts. Außerdem wird die psychosomatische Belastung des Patienten reduziert, die durch starke Schmerzen sehr angespannt sein kann. Die rasche Wiederherstellung der Mobilität sowie deren Aufrechterhaltung spielt gleichermaßen bei allen anderen muskuloskelettalen Erkrankungen eine tragende Rolle, wie etwa Arthrosen, Arthritiden oder Tendinopathien. Problematisch dabei ist, dass Lokalanästhetika vom Amid-Typ (z.B. Bupivacain oder Ropivacain) möglicherweise zur Schädigung des Knorpelgewebes führen können (Dragoo et al. 2008; Farkas et al. 2010; Braun et al. 2012; Brey et al. 2013; Ickert et al. 2015; Kreuz et al. 2017; Busse et al. 2019). Aus diesem Grund wird die intraartikuläre Therapie mit Lokalanästhetika kontrovers diskutiert und oft nur unter strenger Indikationsstellung empfohlen, was insbesondere für die Applikation mittels Schmerzpumpe gilt (Hansen et al. 2007; Bailie und Ellenbecker 2009; McNickle et al. 2009; Anderson et al. 2010; Scheffel et al. 2010; Serrato et al. 2011; Matsen und Papadonikolakis 2013; Gulihar et al. 2015). In den letzten Jahren haben sich auch Hinweise dafür ergeben, dass das Sehngewebe bzw. Tenozyten von Lokalanästhetika alteriert werden, was in einigen *in vitro*-Untersuchungen gezeigt werden konnte (Scherb et al. 2009; Kim et al. 2015; Zhang et al. 2017; Busse et al. 2019).

1.2 Lokalanästhesie

Lokalanästhetika sind bereits seit fast 150 Jahren bekannt und auch medizinisch genutzt. Das erste Lokalanästhetikum war ein Destillat aus den Blättern des Kokabaumes in Südamerika. Der österreichische Augenarzt Carl Koller benutzte die Lösung zur schmerzfreien Behandlung von ophthalmologischen Eingriffen seit Mitte der 1880er Jahre. Die Substanz war etwa 30 Jahre zuvor von Albert Niemann und Friedrich Gaedicke aus dem Kokastrauch isoliert worden. Die chemische Struktur des Alkaloids wurde im Jahr 1898 durch Richard Willstätter entschlüsselt. 25 Jahre später (1923) gelang es Willstätter schließlich auch, das Lokalanästhetikum Kokain synthetisch herzustellen. Längst bekannt waren zu jedem Zeitpunkt bereits die klinisch genutzten neuropsychiatrischen Effekte des Kokains, weshalb es für verschiedene Indikationen, wie etwa zur Behandlung von Depressionen oder allgemeinen Erschöpfungssyndromen, eingesetzt wurde. Davon abgesehen wurde es durch die Substanz möglich, erstmalig chirurgische Eingriffe in völliger oder weitgehender Schmerzfreiheit vorzunehmen (Koller 1892; Goerig et al. 2012).

Nach der Entdeckung und Einführung von Kokain folgten bald weitere Wirkstoffe, wie Procain (1904) oder Lidocain (1943), die beide auch heute noch im Einsatz sind (Leffler und Schulz-Stübner 2019). Hinzu kommen zwischenzeitlich zahlreiche weitere Substanzen, wie etwa Prilocain, Mepivacain oder Bupivacain (Tabelle 1). Sie unterscheiden sich pharmakokinetisch und pharmakodynamisch sehr stark, was sich in deren Potenz, Anschlagzeit und Wirkdauer, aber auch im Hinblick auf die Toxizität äußert (Ahrens und Leffler 2014). Vereinfacht ausgedrückt könnte man sagen, dass die toxische Potenz im Laufe der Entwicklungen vermindert wurde, während die Wirksamkeit sich verbesserte (Zink und Graf 2003).

Tabelle 1: Chronologie der Lokalanästhetika.

Wirkstoff	Typ	Entwicklung
Cocain	Ester-Typ	1884
Procain	Ester-Typ	1905
Tetracain	Ester-Typ	1932
Lidocain	Amid-Typ	1947
Chlorprocain	Ester-Typ	1955
Mepivacain	Amid-Typ	1957
Prilocain	Amid-Typ	1960
Bupivacain	Amid-Typ	1963
Etidocain	Amid-Typ	1971
Articain	Amid-Typ	1987
Ropivacain	Amid-Typ	1996
L-Bupivacain	Amid-Typ	2000

Quelle: Vom Kokain bis zum Bupivacain (Zink und Graf 2003).

Die Wirkmechanismen der Lokalanästhetika sind noch immer nicht vollständig geklärt. Ganz allgemein ist jedoch festzuhalten, dass Lokalanästhetika die Erregungsbildung und -Fortleitung in allen erregbaren Zellen inhibieren bzw. verhindern. Eine besondere Rolle scheint hierbei der Inhibition von Natriumkanälen zuzukommen, wodurch die Entwicklung von Aktionspotenzialen verhindert wird. Von besonderem Interesse ist in diesem Zusammenhang, dass solche Blockaden nicht spezifisch für Lokalanästhetika sind, sondern dass auch andere Substanzen, wie etwa trizyklische Antidepressiva, Antikonvulsiva, i.v.-Anästhetika und einzelne Opioide ähnliche Wirkungen aufweisen (Ahrens und Leffler 2014; Leffler und Schulz-Stübner 2019). Insbesondere für das Opiat Buprenorphin konnte gezeigt, dass dieses lokalanästhetische Effekte aufweist, weshalb es auch oft als Additiv in der Lokalanästhesie verwendet wird (Axelsson und Gupta 2009; Leffler et al. 2012).

Im Rahmen der Behandlung mit Lokalanästhetika ist eine Reduktion des Schmerzes auf etwa ein Drittel der Plazebo-Wirkung möglich. Die Effektivität von Lokalanästhetika im perioperativen Setting ist in der folgenden Boxplot-Grafik exemplarisch für Ropivacain dargestellt (Abb. 1).

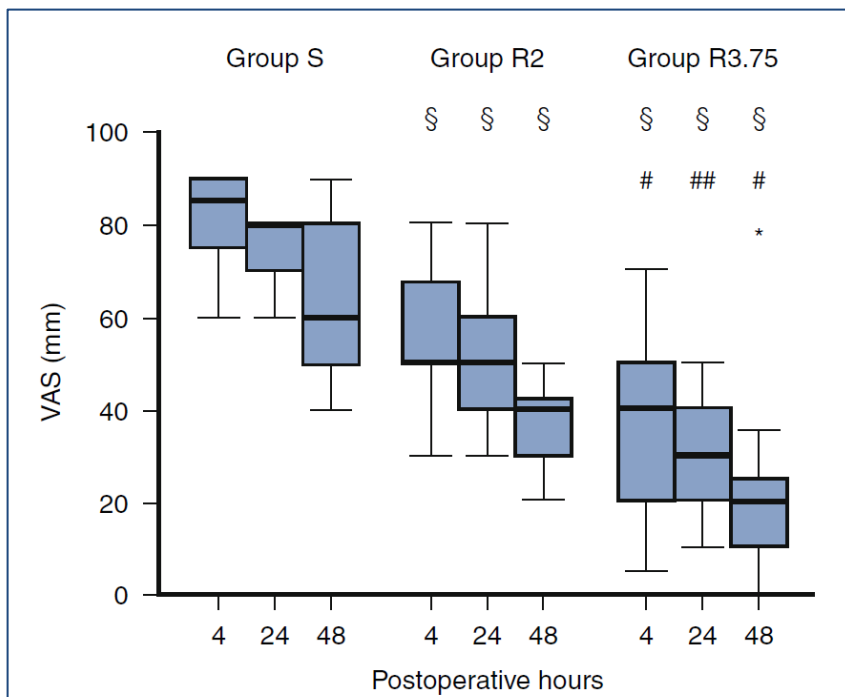


Abb. 1: Analgetische postoperative Wirkung von Ropivacain.

S = Kochsalzlösung; R2 = 0,2%-ige Ropivacain-Lösung; R3,75 = 0,375%-ige Lösung. Bei der höheren Konzentration (0,375%) reduzierte sich der Schmerz vier Stunden nach der OP von ca. 85 auf ca. 40 (VAS Schmerz Kochsalz vs. Verum). Nach 48 Stunden wiesen die Patienten unter Plazebo auf der VAS noch einen Wert von etwa 60 auf, unter Lokalanästhesie hingegen wurde nur noch eine Intensität von 20 erreicht (mäßiger bis starker Schmerz -> leichter Schmerz) (Gupta 2014).

1.3 Opiate

Opiate und Opioide gehören auch in der modernen Medizin noch immer zu den wirksamsten Medikamenten zur Therapie von starken und sehr starken Schmerzen. Deren Nutzen ist allerdings durch eine Reihe von unerwünschten Wirkungen eingeschränkt. Zu diesen Effekten gehören Atemdepressionen, Übelkeit, Obstipation, kognitive Störungen, Toleranzentwicklung und Abhängigkeitspotenzial. Gegen Ende der 1980er Jahre konnte jedoch in einer Reihe von Studien nachgewiesen werden, dass Opiatrezeptoren nicht nur im Gehirn und im Rückenmark vorkommen, sondern dass es auch in der Peripherie solche Rezeptoren gibt. Dadurch war die Voraussetzung geschaffen, um Opiate, wie zum Beispiel Morphin, auch lokal bzw. intraartikulär einzusetzen. Der Vorteil wurde hierbei vor allem darin gesehen, dass auf diese Weise die unerwünschten systemischen Effekte vermindert oder sogar ausgeschlossen werden können, was vor allem für die intraartikuläre Applikation zutrifft (Stein et al. 2003; Stein und Lang 2009; Sehgal et al. 2011).

Erstmalig nachgewiesen wurden Opiat-Rezeptoren von der Gruppe um Russel et al. am Kniegelenk von Katzen (Russell et al. 1987). Wenige Jahre später konnte in einer kontrollierten Studie am Menschen gezeigt werden, dass sich mittels intraartikulärer Morphinapplikation die Schmerzen nach Knie-Operationen signifikant vermindern ließen. Das Maximum der Analgesie wurde nach drei bis sechs Stunden erreicht, wobei die eingesetzten Dosen mit 0,1 bis 1 mg noch relativ gering waren (Stein et al. 1991).

Zwischenzeitlich wird die intraartikuläre Applikation von Morphin zur Behandlung von postoperativen Schmerzen seit etwa drei Jahrzehnten praktiziert; noch immer sind die Ergebnisse jedoch nicht eindeutig und der Nutzen von Opiaten zur Lokalanästhesie wird kontrovers diskutiert (Zeng et al. 2013; Cogan et al. 2016). Viele Autoren gehen jedoch davon aus, dass zum Beispiel die Kombination aus Lokalanästhetikum (Bupivacain) und Morphin eine effektive Kombination darstellt, wobei sich nach deren Auffassung die beiden Substanzen ideal ergänzen. Hierbei soll Bupivacain insbesondere in den ersten Stunden nach dem Eingriff seine Wirkung entfalten, Morphin hingegen mit einer Verzögerung, wodurch ein Langzeiteffekt erzeugt wird (Yang et al. 2017). Insbesondere nach Knie-Operationen wurde

in zahlreichen Studien gezeigt, dass die Kombination der beiden Wirkstoffe zu einer besseren postoperativen Analgesie führt. Dies konnte auch in einer Metaanalyse bestätigt werden (Yang et al. 2017). Als problematisch hat sich jedoch herausgestellt, dass Lokalanästhetika zell- und gewebstoxische Eigenschaften besitzen, weshalb Wirkstoffe wie Morphin oder andere Opiate als potenziell sichere Alternativen in den Fokus des Interesses gerückt sind (Yari et al. 2013; Cogan et al. 2016).

1.4 Toxizität von Lokalanästhetika

Lokalanästhetika werden im Allgemeinen als Wirkstoffe betrachtet, die mit einem geringen Ausmaß an unerwünschten Wirkungen behaftet sind. Dies gilt vor allem vor dem Hintergrund, dass solche Medikamente zu den weltweit am häufigsten eingesetzten Mitteln gehören. Vor allem in der Zahnmedizin, aber auch in der Unfallchirurgie, gehören sie zum unverzichtbaren klinischen Alltag (Fuzier und Lapeyre-Mestre 2010; Wadlund 2017).

Alle Lokalanästhetika weisen eine Toxizität auf, wobei hierfür maßgeblich die unerwünschte systemische Wirkung verantwortlich ist. Es sollten also keine größeren Mengen in den Blutkreislauf gelangen. Durch eine Ultraschallkontrolle kann jenes Risiko heute aber stark reduziert werden. Daneben wird durch solche Kontrollen bei Plexusblockaden gleichzeitig die intraneurale Injektion verhindert, die zu schwerwiegenden neurologischen Schädigungen führen kann. Während solche Aspekte gut bekannt sind und an dieser Stelle nicht näher erläutert werden sollen, steht ein anderes Problem der Lokalanästhesie weniger im Fokus: die Gewebetoxizität (Zink und Graf 2003; Ahrens und Leffler 2014).

Im Hinblick auf die lokale Toxizität spielt vor allem die Schädigung von Nerven- und Muskelzellen eine Rolle. Solche Effekte konnten für alle Lokalanästhetika gezeigt werden (zumindest *in vitro*), wobei Unterschiede zwischen den einzelnen Substanzen vorliegen. Im Hinblick auf die lokale Schädigung von Muskelzellen (Myotoxizität) scheint Bupivacian das größte Potenzial aufzuweisen, die klinische Relevanz ist jedoch meist nicht groß. Symptomatische Muskelschädigungen stellen eher eine Seltenheit dar (Al-Nasser 2002; Zink und

Graf 2003; Zink et al. 2007). Dies gilt allerdings nicht für wiederholte Anwendungen oder für die Kombination mit Steroiden und Vasokonstriktoren. In diesen Fällen können vereinzelt ausgedehnte Gewebeschädigungen beobachtet werden, die darüber hinaus nicht auf Muskelzellen beschränkt sind und bei denen es zu persistierenden histopathologischen Veränderungen kommen kann (Faccenda und Finucane 2001; Zink et al. 2007).

Neben den neuro- und myotoxischen Effekten sind in den letzten Jahren auch andere Nebenwirkungen der Lokalanästhetika in den Fokus des Interesses gerückt, wie zum Beispiel die chondrotoxischen Eigenschaften (Chondrolyse). Diese spielen bei der intraartikulären Injektion zur Behandlung chronischer Schmerzen oder bei der postoperativen Schmerzkontrolle eine Rolle. Es wurden deshalb Bedenken geäußert, ob und inwiefern Lokalanästhetika intraartikulär angewandt werden sollten (Zink et al. 2007; Piper et al. 2011; Ahrens und Leffler 2014).

Nole et al. (1985) hatten erstmalig über den negativen Effekt von Bupivacain auf den Gelenkknorpel berichtet, und dies sowohl im Zellversuch als auch tierexperimentell *in vivo*. Zum einen kam es im Beobachtungsverlauf hierbei jedoch zu einer Wiederherstellung des chondrozytären Metabolismus, zum anderen kamen die Autoren (fälschlicherweise) zu dem Schluss, dass die Ursache der Veränderungen nicht durch das Lokalanästhetikum verursacht wurde, sondern vielmehr durch die Kochsalzlösung, die als Verdünnung diente. Bupivacain wurde folglich zunächst als sicher eingeschätzt (Nole et al. 1985). Zur vergleichbaren Schlussfolgerung kamen später auch andere Autoren aufgrund einer humanen *in vitro*-Studie (Jaureguito et al. 2002). Dies untermauerte zunächst die Vermutung, dass die intraartikuläre Verabreichung von Lokalanästhetika keinen negativen Einfluss auf den Gelenkknorpel bzw. die Chondrozyten haben würde.

Diese Betrachtungsweise dürfte heute allerdings nicht mehr ohne Weiteres haltbar sein. Etwa ab Mitte der 2000er Jahre wurden die Hypothesen der oben genannten Autoren vermehrt infrage gestellt. Nunmehr wurden auch permanente Schädigungen und Apoptosen der Knorpelzellen nachgewiesen, wobei es sich meist um *in vitro*-Studien (Zellkulturen) und zum Teil um tierexperimentelle Experimente handelte, die unterschiedliche Ergebnisse aufwiesen (Chu et al. 2008; Piper et al. 2011). Eine Rolle scheint bei den Zellkultur-Studien der

pH-Wert zu spielen, wobei pH-Werte < 5 chondrozytische Effekte erkennen ließen, pH-Werte $> 5,5$ hingegen nicht (Dragoo et al. 2010). In den letzten zehn Jahren wurde schließlich auch über Einzelfälle und Fallserien berichtet, bei denen nach peri- oder intraartikulärer Applikation von Lokalanästhetika (meist mit Adjuvantien) auch beim Menschen chondrozytische Effekte beobachtet werden konnten, zunächst meist in Form einer post-arthroskopischen glenohumeralen Chondrolyse (PAGCL) bei Patienten mit Schulterschmerzen, aber auch nach Eingriffen am Kniegelenk (Levy et al. 2008; Scheffel et al. 2010; Slabaugh et al. 2010; Piper et al. 2011; Noyes et al. 2012; Rao et al. 2014). Nachfolgend ist exemplarisch der Fall einer ausgeprägten Chondrolyse nach intraartikulärer Infusion von Lokalanästhetika dargestellt, wobei ein Zusammenhang zwischen Wirkstoff und unerwünschter Wirkung vermutet wurde (Abb. 2).



Abb. 2: Radiologischer Befund der Schulter vor und nach Arthroskopie.

Links: Vor Arthroskopie. **Rechts:** Befund 11 Monate nach Arthroskopie und Infusion von Bupivacain und Lidocain. Bild einer ausgeprägten Chondrolyse mit deutlicher Verminderung des Gelenkspaltes, unregelmäßiger Oberfläche und Zystenbildung (Scheffel et al. 2010).

Insgesamt wurde in den vergangenen Jahren in verschiedenen tierexperimentellen sowie in präklinischen und klinischen Studien der Einfluss von Lokalanästhetika auf den Gelenkknorpel untersucht (Piper et al. 2011; Angele und Zellner 2016). Hierbei konnte zum Beispiel im Tiermodell gezeigt werden, dass bereits die kurzfristige Einwirkung von 15 bis 30

Minuten zu pathologischen Veränderungen des Gelenkknorpels führen kann. Die Datenlage ist jedoch nicht eindeutig, wobei die zahlreichen Untersuchungen aufgrund der unterschiedlichen Methodik oft nur bedingt miteinander vergleichbar sind (Angele und Zellner 2016). Neben der Dosierung dürfte hierbei auch die Wahl des Wirkstoffes und die Methodik eine Rolle spielen (Zellkultur, *in vitro* Exposition von Knorpelmaterial, Tierversuch, Fallbeobachtungen, humane Studien) (Piper und Kim 2008; Piper et al. 2012).

Eine Rolle spielt auch die Frage, ob und in welchem Ausmaß bereits eine Vorschädigung des Knorpels vorliegt. Im humanen *in vitro*-Versuch war der chondrotoxische Effekt von verschiedenen Lokalanästhetika größer, wenn es sich um Material von Patienten mit Arthrose handelte (Breu et al. 2013; Angele und Zellner 2016). Hierbei spielt vermutlich, neben dem Milieu (z.B. pH-Wert), auch die Verwendung von Additiven (z.B. Adrenalin, Morphin, Corticosteroide, NSAR) eine Rolle (Piper et al. 2011). So haben sich zum Beispiel für Corticosteroide wie Betamethason oder Triamcinolon Hinweise auf eine Chondrotoxizität ergeben, sowohl in Kombination mit Lokalanästhetika als auch bei alleiniger Applikation (Farkas et al. 2010; Braun et al. 2012; Dragoo et al. 2012b). Möglicherweise tritt bei Kombination beider Wirkstoffgruppen eine Verstärkung oder eine Potenzierung des knorpelschädigenden Effekts auf (Seshadri et al. 2009; Syed et al. 2011; Braun et al. 2012).

In Zellkultur-Studien konnte unter Bupivacain und Lidocain bei humanem Gelenkknorpel zum Teil eine fast vollständige Apoptose beobachtet werden (Jacobs et al. 2011; Breu et al. 2013; Angele und Zellner 2016). Außerdem können Lokalanästhetika die Chondrogenese stören, indem sie einen zytotoxischen Effekt auf die mesenchymalen Stammzellen während der chondrogenetischen Differenzierung ausüben (Breu et al. 2015).

Knorpelschädigende Effekte wurden auch im klinischen Umfeld beobachtet. In einer Fall-Kontroll-Studie trat bei 28,3 % der Patienten (n=13 von 46), die mittels einer intraartikulären Schmerzpumpe mit Bupivacain und Epinephrin behandelt worden waren, eine Chondrolyse im Kniegelenk auf; in der Kontrollgruppe wurde diese Komplikation nicht beobachtet. Das Problem trat vor allem bei Bupivacain-Konzentrationen von 0,5 % auf. Bei einer Konzentration von 0,25 % wurde nur in einem Falle eine Chondrolyse beobachtet (Buchko et al. 2015). Die Abhängigkeit von der Konzentration war zuvor auch *in vitro* festgestellt worden, wobei

wiederum vor allem 0,5%ige Lösungen von Bupivacain mit Schädigungen der Chondrozyten einhergingen (Chu et al. 2008).

Da Lokalanästhetika, ggf. in Verbindung mit Adjuvantien, zytotoxische und chondrotoxische Eigenschaften aufweisen, ist zu vermuten, dass dies auch auf bindegewebige Strukturen wie Sehnen und Bänder zutrifft. Dies konnte zellbiologisch im Rahmen von *in vitro*-Untersuchungen auch nachgewiesen werden. Nach Inkubation von Tenozyten mit Bupivacain wurde eine Nekrose-Induktion in Verbindung mit Apoptosen beobachtet. Für Ropivacain waren die Effekte geringer ausgeprägt (Zhang et al. 2017). Ein ähnlicher Befund war für Bupivacain und Ropivacain bereits im Zusammenhang mit Chondrozyten beobachtet worden (Piper und Kim 2008).

1.5 Ziele der Arbeit

Von zahlreichen Arbeitsgruppen konnte gezeigt werden, dass Lokalanästhetika wie Bupivacain oder Ropivacain sowohl *in vitro* als auch *in vivo* zytotoxische Effekte gegenüber tierischem und humanem hyalinen Knorpelgewebe aufweisen. Bereits die kurze Exposition mit solchen Substanzen kann den Metabolismus der Chondrozyten stören und mit Apoptosen oder Nekrosen einhergehen. Makroskopisch manifestiert sich dies in einer Degeneration des Gelenkknorpels (Gomoll et al. 2009; Chu et al. 2010; Piper et al. 2011) (vgl. auch Kap. 1.1 Hintergrund, S. 1). Darüber hinaus liegt vermutlich auch eine Neurotoxizität vor (Steверink et al. 2021).

Im Rahmen dieser Studie sollte verifiziert werden, inwiefern auch eine Toxizität gegenüber Tenozyten besteht, da das Sehnen- und Bändergewebe im Rahmen von lokalen Infiltrationen stets in Kontakt mit den verabreichten Stoffen kommt. Dies gilt insbesondere, wenn Rotatorenmanschettensyndrome oder andere Tendopathien behandelt werden sollen. Ein wichtiges Ziel war es, festzustellen, welchen Einfluss die gleichzeitige Gabe von Dexamethason hat. Hierbei wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Zelltoxizität durch das Corticosteroid verringert oder verhindert werden kann. Da Morphin eine potenzielle Alternative zu den gängigen Lokalanästhetika darstellen könnte, wurde auch dessen Effekt auf die Tenozyten untersucht. Wiederum wurde hierbei geprüft, welchen Einfluss die Kombination mit Dexamethason hat. Schließlich wurde in das *in vitro*-Setting auch Morphin-6-Glucuronid einbezogen, das ein wichtiger und analgetisch wirksamer Hauptmetabolit des Morphins ist. Zusammenfassendes Gesamthauptziel war es zu untersuchen, ob Morphin und dessen Metabolit Morphin-6-Glucuronid eine sichere Alternative zu Lokalanästhetika bei der peritendinösen Therapie darstellen könnten.

2 Dexamethasone Does not Compensate for Local Anesthetic Cytotoxic Effects on Tenocytes: Morphine or Morphine Plus Dexamethasone May Be a Safe Alternative, Oeyen A. L., Kircher J., Vogl M., Ickert I., Osada N., Krauspe R., Bittersohl B., Herten M., *Arthroscopy, Sports Medicine, and Rehabilitation*, (Vol 4, No 2 (April)) pp e459-e469 (2022).



Dexamethasone Does not Compensate for Local Anesthetic Cytotoxic Effects on Tenocytes: Morphine or Morphine Plus Dexamethasone May Be a Safe Alternative

Anne Lene Oeyen, M.D., Jörn Kircher, M.D., Ph.D., Melanie Vogl, M.D., Irina Ickert, M.D., Nani Osada, Ph.D., Rüdiger Krauspe, M.D., Prof., Bernd Bittersohl, M.D., Ph.D., and Monika Herten, Ph.D.

Purpose: The purposes of this in vitro study were to investigate whether the addition of dexamethasone can compensate for any cytotoxic effects of the amide-type local anesthetics (LA) bupivacaine and ropivacaine and whether morphine and morphine-6-glucuronide (M6G) may be a safe alternative for peritendinous application. **Methods:** Biopsies of human biceps tendons ($n = 6$) were dissected and cultivated. Cells were characterized by the expression for tenocyte markers, collagen I, biglycan, tenascin C, scleraxis, and RUNX via reverse transcriptase-polymerase chain reaction and immunohistochemistry. Tenocytes were incubated with bupivacaine, ropivacaine, morphine, M6G, or a saline control with and without addition of dexamethasone for 15, 60, or 240 min. Cell viability was determined by quantifying the presence of adenosine-triphosphate. **Results:** Significant time-dependent cytotoxic effects were observed for LA after all exposure times. After 15, 60, and 240 minutes, cell viability decreased to 81.1%, 49.4% and 0% ($P < .001$) for bupivacaine and to 81.4%, 69.6%, and 9.3% ($P < .001$) for ropivacaine compared to saline control. Dexamethasone did not compensate for these cytotoxic effects. Cell viability was not affected after 15, 60-min exposures to morphine and M6G but decreased significantly ($P < .001$) after 240 minutes compared to saline control. However, in combination with dexamethasone, tenocyte viability was significantly increased at all times for morphine ($P < .01$) and at 15 and 60 minutes for M6G ($P < .01$). **Conclusions:** The results showed that amide-type LA have a time-dependent cytotoxic effect on human tenocytes in vitro, which could not be compensated for by dexamethasone, whereas morphine and M6G had no cytotoxic effects on tenocytes after 15 and 60 minutes. The addition of dexamethasone to morphine and M6G had a positive effect on viability, which increased significantly compared to the opioids. **Clinical Relevance:** It is known that amide-type local anesthetics used for local joint analgesia have chondrotoxic side-effects. The combined application of morphine and dexamethasone may be a safe alternative.

Introduction

Intraarticular, periarticular, and peritendinous injections with amide-type local anesthetics (LA) and/or corticosteroids are performed for analgesia and to inhibit inflammation in patients with substantial joint pain (postoperative, degenerative, and inflammatory diseases). Although analgesia is required for early rehabilitation and prevention of joint stiffness, studies

have proven that amide-type local anesthetics have chondrotoxic side effects, whose intensity depends on the actual active substance, time of exposure, and concentration.¹⁻⁹ Currently, intraarticular injection is only performed under strict indication and is becoming less common, whereas postoperative intra-articular infusion of a local anesthetic via a pain pump has been abandoned because of devastating cases of

Department of Orthopedic and Trauma Surgery, Caritas-Klinik Maria Heimsuchung Berlin-Pankow, Berlin, Germany (A.L.O.); Department of Shoulder and Elbow Surgery, ATOS Klinik Fleetinsel Hamburg, Hamburg, Germany (J.K.); Department of Pediatrics, University Hospital Essen, Essen, Germany (M.V.); Department of Medicine II, Rheinlandklinikum Neuss, Neuss, Germany (I.I.); Department of Medical Statistics and Biomathematics (formerly), University of Münster, Münster, Germany (N.O.); Department of Orthopedic Surgery, Medical Faculty, Heinrich-Heine University Düsseldorf, Düsseldorf, Germany (A.L.O., J.K., R.K., B.B., M.H.); Department of Orthopedic and Trauma Surgery, Medical Faculty, Heinrich-Heine University Düsseldorf, Düsseldorf, Germany (B.B.); and Department of Trauma, Hand and Reconstructive Surgery, University Hospital Essen, Essen, Germany (M.H.).

The project was funded by the Research Commission of the Medical Faculty of the Heinrich-Heine University Düsseldorf, Germany (J.K.). We acknowledge

support by the Open Access Publication Fund of the University of Duisburg-Essen, Germany (M.H.). Full ICMJE author disclosure forms are available for this article online, as [supplementary material](#).

Received May 14, 2021; accepted November 3, 2021.

Address correspondence to Jörn Kircher, M.D., Ph.D., Department of Shoulder and Elbow Surgery, ATOS Klinik Fleetinsel Hamburg, Admiralitätstraße 4, 20459 Hamburg, Germany. E-mail: j-kircher@web.de.

© 2021 THE AUTHORS. Published by Elsevier Inc. on behalf of the Arthroscopy Association of North America. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>). 2666-061X/21681

<https://doi.org/10.1016/j.asmr.2021.11.004>

glenohumeral chondrolysis.¹⁰⁻¹⁷ Recent research has confirmed a similar cytotoxic effect of LA on tenocytes in vitro.^{6,18-21,22} In vivo studies evaluating the cytotoxic profile of LA in tendons are limited and present partially conflicting results after periarticularly injected LA. Whereas Friel et al. found no effects on rotator cuff tendons in rabbits after continuous subacromial bupivacaine infusion (.25 % with epinephrine for 48 h) after 2 weeks, Lehner et al. demonstrated that a single injection of .5% bupivacaine caused short-term changes in rat Achilles tendons.^{23,24} Similarly, Nuelle et al. noted significant tenotoxicity of the supraspinatus tendon after a single injection of a combination of bupivacaine in low concentration (.06%) and corticosteroids into the subacromial space in adult dogs at day 7.²⁵

Corticosteroids still play a major role in the management of all kinds of inflammatory disease, especially in the musculoskeletal system.²⁶⁻²⁹ In multiple clinical trials, the addition of corticosteroids extended the duration of the analgesic effect of LA in regional blocks (brachial plexus).³⁰⁻³⁴ Corticosteroid adjuvants in periarticular analgesic injections are of interest; in fact, several clinical studies have reported a slight reduction in postoperative pain or prolongation of analgesic effect with the addition of corticosteroids to periarticular and intra-articular LA.³⁵⁻⁴²

Alternatives to LA with fewer side-effects are urgently needed. The mode of action of opioid drugs differs from that of amide-type local anesthetics and may be a safe and potent alternative for particular application. Morphine has been proven to provide sufficient analgesic effect in periarticular application^{43,44} and intraarticular application.⁴⁵⁻⁵⁰ Experimental trials have shown that morphine is significantly less chondrotoxic^{1,51,52} and tendotoxic²⁰ compared to LA.

Morphine-6-glucuronide, an active metabolite of morphine, is an effective analgesic with a slower onset but and a longer analgesic effect/duration of action compared to morphine when administered intravenously or subcutaneously. Side effects, most importantly postoperative nausea and vomiting, occur less frequent after M6G treatment.⁵³ Studies suggest that the metabolite M6G instead of morphine itself is the major contributor of analgesic effect via μ -opioid receptors after administration of morphine to patients, irrespective of the route of administration.^{53,54}

In the present study, we investigated whether the addition of dexamethasone can compensate for any cytotoxic effects of the amide-type LA (bupivacaine and ropivacaine) and whether opioids (morphine and morphine-6-glucuronide) may be a safe alternative for peritendinous application.¹

Our hypothesis is, that morphine and M6G do not reduce the viability of the primary human tenocytes, in

contrast to the LA bupivacaine and ropivacaine and that the addition dexamethasone can compensate for the cytotoxicity caused by the LA.

Materials and Methods

Study Population

The study was approved by the local Ethics Committee of the Heinrich-Heine-University Düsseldorf (#3506). Informed consent was gathered prior to the study initiation from the patient, caregiver, or legal representative. The tendon samples were obtained from patients without preexisting illnesses (i.e., metabolic syndrome, diabetes, coronary heart diseases, acute or chronic infections, and cancer), who were scheduled to undergo arthroscopic surgery for rotator cuff repair or open shoulder surgery, such as hemiarthroplasty following humeral head fractures. Exclusion criteria were the presence of substantial degenerative tendon changes, infections, or previous surgery at the site of biopsy. Proximal explants of human long biceps tendons were obtained from 6 patients in total (2 male and 4 female), with an average age of 48.5 ± 18.9 years (range: 24-75 years). A case number estimation for unrelated samples and continuous targets was performed using the program "jumbo" from the University of Münster, Münster, Germany.⁵⁵ For the power analysis, we used our previous study as a guide, in which the effect of LA and morphine on the viability of chondrocytes was tested.¹ The case number estimation resulted in a maximal case number of 5; we decided to take $n = 6$.

Tenocyte Harvesting and Culture

Visually intact proximal explants of the long biceps tendons were washed 3 times in sterile PBS (Gibco, Deisenhofen, Germany). Tenocytes were harvested by cell migration, as previously described.^{56,57} The tendons were dissected into 30-60 mm³ fragments and cultivated in culture flasks using Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; Gibco) with 4.5 g/L glucose, 20% fetal bovine serum (Gibco), 100 units/mL penicillin, 100 μ g/mL streptomycin and 2 mM glutamine (Gibco) culture conditions analogous to chondrocytes, as previously described.¹ The culture conditions were 8.5% CO₂ at 37°C. No further growth or differentiation factors were added. The medium was changed twice per week. Tenocytes continuously migrated from the tendon fragments and adhered to the culture flask. Immediately before the cells displayed a confluent monolayer (defined as passage zero, or P0), they were trypsinized (.05% trypsin/.02% ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) (Gibco) counted and either cryopreserved or subcultured directly into passage one (P1). Cryopreservation of cells (P0) was performed in 90% FCS + 10% DMSO (Gibco) at -80°C in 5 of 6 patients. For the experiments, the cells were thawed

and subcultured as P1. The cells of all 6 patients were subsequently subcultured into passage two (P2), which was used for the experiments.

Cell Characterization

The tenocytes of P2 of all 6 patients were characterized by their expression via RT-PCR and protein profiles via immunocytochemistry for five typical tenocyte markers, collagen I, biglycan, tenascin C, scleraxis, and RUNX. GAPDH was used as a housekeeping gene.

Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

In order to control the tenocyte genotype, RNA was extracted from 6 wells ($\sim 7.4 \times 10^4$ tenocytes in total) using the RNeasy mini kit (Qiagen, Hilden, Germany), according to the manufacturer's instructions. RNA concentration was measured by a photometer (NanoDrop, Peqlab, Erlangen, Germany). For PCR, the One-Step RT-PCR Kit (Qiagen) was used in a thermocycler (Allignet Technologies, Ratingen, Germany), according to the manufacturer's instructions. The PCR program consisted of the reverse transcription at 50°C for 30 minutes, the initial PCR activation at 95°C for 15 minutes, 35 times (35 \times) the following three-step-cycle: 1) denaturation at 94°C for 30 seconds, 2) annealing at 55°C for 30 seconds, and 3) extension at 72°C for 60 seconds with a final extension at 72°C for 10 minutes. PCR products were separated via agarose gel electrophoresis. The primers for Aggrecan, Biglycan, Decorin, Collagen I and Tenascin C were used as described before.⁵⁸ GAPDH (5'-ctc aag atc agc aat gcc, 3'-gat ggt aca tga caa ggt gc) was used as housekeeping gene.

Immunocytochemical Staining

In order to control the tenocyte phenotype, the cells were immunocytochemically stained for tenocyte markers. The cells of the second passage were seeded onto 24-well plates in a cell density of 3×10^3 cells/cm² and cultured for 4 days. After fixation with 4% buffered paraformaldehyde (Rotifix, Carl Roth, Germany), endogenous peroxidase was blocked with .3% hydrogen peroxide for 30 minutes. After washing, the fixed cells were incubated with the primary monoclonal or polyclonal antibodies at 5°C. The monoclonal antibodies were collagen I, (1:100 dilution, AbDSerotec, Puchheim,

Germany), biglycan (1:200 dilution, Abcam, Cambridge United Kingdom), and tenascin C (1:100 dilution, Acris Antibodies, Hiddenhausen, Germany). The polyclonal antibodies were Runx 2 (1:500 dilution, rat-anti-human; R&D Systems, Minneapolis, MN) and scleraxis (1:100 dilution, rabbit-anti-human; Acris Antibodies). The respective negative controls were incubated in comparable concentrations of either mouse IgG1, IgG2a (Vector Laboratories, Burlington, CA), polyclonal rat or rabbit serum in antibody diluent (Dako, Agilent, Santa Clara, CA) at 5°C. After washing, a secondary anti-mouse or anti-rat biotin-labeled antibody (Vector Laboratories) was added for 60 minutes at RT. The antibody-antigen complex was visualized using streptavidin peroxidase (Vector Laboratories) and diaminobenzidine (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) as chromogen.

Experimental Setup

Tenocytes of $n =$ six donors (P2) were seeded onto 24-well plates (Nunc, Darmstadt, Germany) in a concentration of 3×10^3 cells/cm² using the DMEM, as described before. At day 4, the cells were incubated with the substances, and finally, they were fixed for immunocytochemistry or conserved for PCR. The cell supernatant was removed for incubation, and the cells were exposed to the following substances for increasing incubation times (15, 60, and 240 minutes) (Table 1). The cells were incubated with the anesthetics bupivacaine (5 mg/mL; Bucain-Actavis, Actavis, Langenfeld, Germany), ropivacaine (7.5 mg/mL; Naropin, AstraZeneca, Wedel, Germany), morphine (10 mg/mL, diluted with saline; Merck Serono Darmstadt, Germany), morphine-6-glucuronide (M6G; 5 mg/mL; diluted with saline; Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Germany) or saline as a control. Furthermore, dexamethasone (2.5 mg/mL; Lipotalon, Merckle Recordati, Ulm, Germany) was also added to the cells. Combinations of dexamethasone and local anesthetic were diluted 1:10 (dexamethasone: local anesthetic) to mimic clinical practice.⁶ Dexamethasone alone was diluted with saline. These concentrations of the LA have been used in previous and comparable in vitro studies with chondrocytes^{1,7,52,59} and tenocytes^{18-20,60}, as well as intra-articular and periarticular^{38,45,61,62} in clinical studies. Furthermore, these are concentrations that can be used for anesthesiologic field blocks with LA in surgery.^{63,64}

Table 1. Incubation Scheme and the Concentrations Used

Incubation time final concentration	Without dexamethasone			with dexamethasone 0.23 mg/ml = 0.023 %		
	15 min	60 min	240 min	15 min	60 min	240 min
Bupivacaine 5 mg/ml = 0.5 %	X	X	X	X	X	X
Ropivacaine 7.5 mg/ml = 0.75 %	X	X	X	X	X	X
Morphine 0.5 mg/ml = 0.05 %	X	X	X	X	X	X
Morphine-6 glucuronide 0.5 mg/ml = 0.05 %	X	X	X	X	X	X
control saline NaCl 9 mg/ml = 0.09 %	X	X	X	X	X	X

For each concentration, time point, and patient, $n = 6$ wells were used. After incubation with the anesthetics, the cells were washed with PBS and cultured further in a fresh medium without additives. Three days after incubation, cell viability was measured in $n = 6$ wells per substance and time point for each of $n = 6$ donors (= 36 wells in total per condition) (Table 1).

To exclude any side effects, the final anesthetic and dexamethasone solutions in culture medium were controlled for osmolality (Osmometer, Knauer, Oberursel, Germany) and pH value. Cell culture medium is designed to have osmolality in the range of 260 and 320 milliosmoles (mOsm), basically to mimic the osmolality of serum at 290 mOsm/kg.⁶⁵ For ropivacaine and bupivacaine, the values were 301.7 and 290.0 mosmol/L. After the addition of dexamethasone, the values were 303.7 and 288.7 mosmol/L. Morphine and M6G yielded values of 313.7 and 292.7 mosmol/L. The addition of dexamethasone did not change osmolality, and the pH values were in the range of 6.0–6.5.

Cell Viability Measurement

Cell viability was assessed using the CellTiter-Glo luminescent cell viability assay (Promega, Mannheim, Germany), as described before.^{1,66} This assay quantifies the presence of adenosine triphosphate (ATP), which identifies the metabolically active cells. Luminescence produced by the luciferase-catalyzed reaction of luciferin and ATP was measured using a multilabel plate reader (VICTOR3; PerkinElmer LAS, Rodgau-Jügesheim, Germany).

One major advantage of this method is that it is fast, the background interference (autofluorescence from compounds, media, and cells) is low, and it generally provides a much broader dynamic range and higher sensitivity. In brief, the medium was removed, 50 μ L PBS and 150 μ L CellTiter-Glo reagent was added into each well. After an incubation period of 20 minutes at room temperature, the luminescent signal was recorded in counts per second. ATP standard curves were plotted with defined ATP concentrations (25–4000 nM) for each measurement, and the number of cells was calculated with standard measurements performed for each patient with defined numbers of tenocytes from the monolayer culture (standard curves with 7.8×10^2 , 1.5×10^3 , 3.12×10^3 , 6.2×10^3 , 1.25×10^4 , 2.5×10^4 , 5×10^4 , and 1.0×10^5 cells). The mean intra-assay coefficient of variability of the CellTiter-Glo luminescent cell viability assay was 1.28 % in the preliminary experiments ($n = 3$; .88–1.62 %). The mean inter-assay coefficient of variability of the CellTiter-Glo luminescent cell viability assay of the main experiments was 2.49 % ($n = 5$, .93–3.35%).

Statistics

The statistical analyses were performed using SPSS software (SPSS 27.0, Chicago, IL; Microsoft Excel,

Redmond, WA). Data were expressed as means \pm SD for cell viability. For the statistical comparisons between the different independent groups, the nonparametric Mann–Whitney *U*-test was used to compare cell viability after incubation with the different substances. To determine the influence of dexamethasone on the incubation with LA (bupivacaine/ropivacaine) or morphine/M6G, the *t*-test for equality of means for independent samples was used. The level of significance was set at $P < .05$.

Results

Cell Proliferation and Characterization

The average generation time of the first two passages of cells was 3.46 ± 1.00 days; the range was 2.84–5.45 days for $n = 6$ donors. The cells were characterized as tenocytes by the expression of the tenocyte markers biglycan, runx, scleraxis, collagen I, and tenascin C on the protein level, as shown via immunohistochemical staining of the typical tenocyte marker (Fig 1). Also, on the mRNA level, the expression of the tenocyte markers could be detected in 5 of the 6 patients. For one patient, the amount of mRNA was not sufficient for all PCRs (Fig 2).

Cell Viability After Exposure

There was a significant time-dependent decrease in the tenocytes' cell viability after exposure to amide-type local anesthetics (bupivacaine and ropivacaine) (Fig 3). After 15, 60, and 240 minutes of incubation with bupivacaine, cell viability decreased to 81.1 ± 18.9 % ($P < .001$), $49.4 \pm .22$ % ($P < .001$) and .0 % in relation to the saline control (=100 %). Ropivacaine caused a similar decrease in tenocyte viability after short-term incubation but did not lead to complete cell death after long-term incubation. After incubation for 15, 60, and 240 minutes, cell viability decreased to 81.4 ± 18.2 % ($P < .001$), 69.6 ± 14.0 % ($P < .001$) and 9.2 ± 3.1 % ($P < .001$) in relation to the saline control.

There was no statistical difference in cell viability after incubation with morphine and M6G for 15 and 60 minutes compared to the saline control (morphine: 96.1 ± 16.1 % and 100.5 ± 15.3 %, M6G: 97.0 ± 19.0 % and 99.2 ± 18.4 %). After 240 minutes, the viability decreased to 78.6 ± 6.0 % (morphine, $P < .001$) and to 86.1 ± 8.5 % (M6G, $P < .01$) compared to saline control. The further time-dependent decrease at 240 minutes, compared to viability after 15 and 60 minutes, was only significant for morphine (Fig 3).

Exposure to dexamethasone alone (without other additives) had no significant effect on viability after any exposure time ($t = 15$: 101.6 ± 20.5 %; $t = 60$: 104.2 ± 17.3 %; $t = 240$: 99.3 ± 19.7 % compared with saline as control).

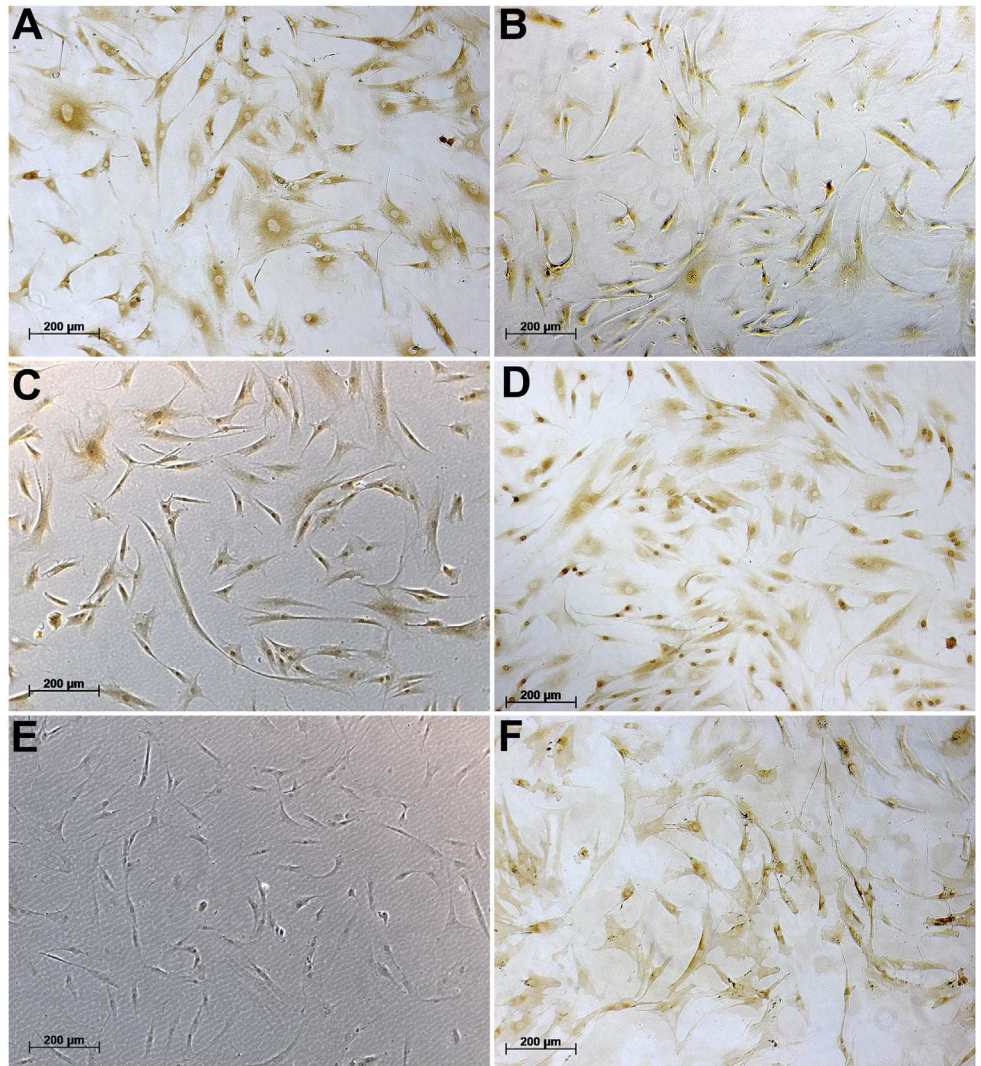


Fig. 1. Immunohistochemical staining of tenocyte markers: biglycan (A), Runx (B), scleraxis (C), collagen I (D), unstained control (E), tenascin C (F).

The cytotoxic effects of bupivacaine and ropivacaine were not compensated for by the addition of dexamethasone. In contrast, after incubation for 15 minutes, the viability of the tenocytes decreased significantly, with the addition of dexamethasone compared to when they were incubated with the anesthetics alone (bupivacaine: $81.1 \pm 19.0\%$ vs $50.1 \pm 22.5\%$ [$P < .001$], ropivacaine $81.4 \pm 18.2\%$ vs $69.5 \pm 19.2\%$ [$P < .05$]) (Fig. 4A). After a more prolonged incubation (60 and 240 minutes), there was no significant difference in the viability with or without the addition of dexamethasone. (Fig 4, B and C).

The addition of dexamethasone to morphine and M6G had a positive effect on the viability of tenocytes, which increased significantly for all incubation times compared to the opioids alone. It was even higher than the saline control (=100%) for most time points (Fig 4, A–C). The values for morphine and dexamethasone were $110.7 \pm 18.5\%$ ($P < .01$), $116.5 \pm 23.2\%$ ($P < .001$), and $112.4 \pm 19.2\%$ ($P < .001$) after 15, 60,

and 240 minutes and with >100% higher than the saline control. Also combined incubation of M6G and dexamethasone displayed increased cell viability with $111.1 \pm 21.3\%$ ($P < .01$), $110.6 \pm 16.4\%$ ($P < .001$), and $100.0 \pm 20.1\%$ after 15, 60, and 240 minutes compared to the saline control (=100%).

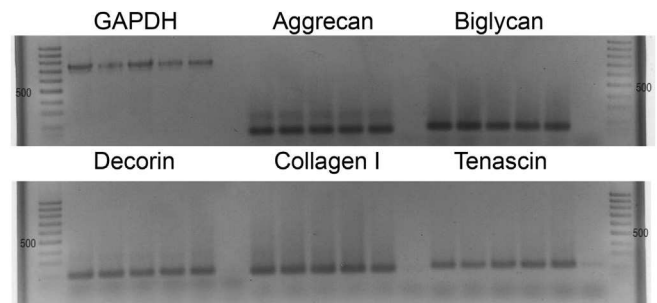


Fig 2. Expression profile of typical tenocyte markers. In the cells of all five patients tested, the tenocyte markers were expressed in comparable intensities.

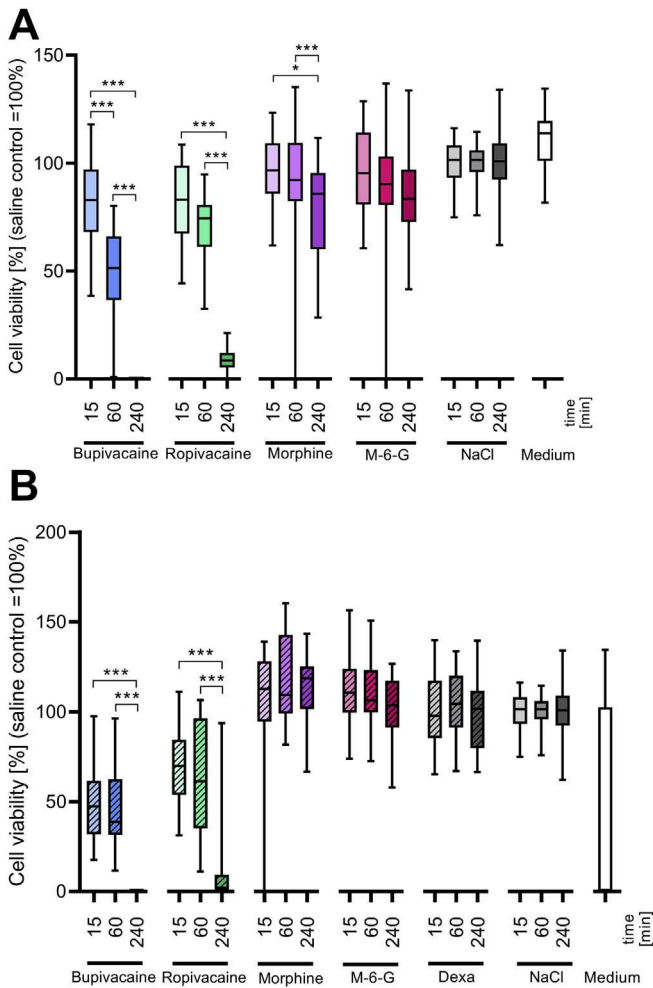


Fig 3. Cell viability after exposure to all substances. (A) Influence of different incubation times (15, 60, and 240 minutes) with anesthetics on the viability of tenocytes in relation to the saline control (=100%). (B) Influence of different incubation times (15, 60, and 240 minutes) with anesthetics combined with dexamethasone on the viability of tenocytes in relation to the saline control. The box plots span the interquartile range. The vertical line inside the box represents the mean. The whiskers extend to the highest and lowest observations. Experiments reveal the means \pm SD of $n = 6$ wells per patient ($n = 6$ patients) for each time point and substance, amounting to a total of 36 wells per time point and substance, except for morphine and M6G with $n = 5$ patients at 60 minutes with a total of 30 wells. Statistical significances are expressed as $*P < .05$; $**P < .01$; $***P < .001$.

Discussion

The tested opioid drugs, morphine and M6G, showed no cytotoxic effects on human tenocytes after short-time exposure of up to 60 minutes, as cell viability was as high as in the saline control. After long-time exposure to opioids for 240 minutes, the slightly decreased cell viability was counterbalanced by the addition of dexamethasone. We observed severe cytotoxic effects of LA after incubation for 240 min,

resulting in complete cell death in bupivacaine, and nearly complete cell death in ropivacaine, which could not be compensated for by the addition of dexamethasone. Dexamethasone alone had no significant impact on the viability of the tenocytes compared to saline control in our experiments.

In our study, we observed the absence of relevant cytotoxic effects of opioids after short-term exposure. These findings are in line with the results of the study by Haasters et al., who did not find any adverse effect for morphine (.25 mg/mL, 120 minutes) on the viability of human tendon stem/progenitor cells from hamstring tendons.²⁰ However, in contrast to Haasters, we observed a low, but significant, decrease in viability after longer exposure (240 minutes) to both opioids. This might be due to the different time points for viability measurement (Haasters after 0-6 hours, our study after 72 hours), delayed cytotoxic effects, and the double concentration of morphine (.5 mg/mL) used in our study. So far, there have been no studies showing the effect of M6G on tenocytes. In previous experiments on human chondrocytes, morphine, as well as M6G (both .5 mg/mL) did not affect viability after 240 minutes of incubation.¹ Other in vitro studies confirmed this neutral effect of morphine on chondrocyte viability in cocultures of canine cartilage and synovial tissue explants⁵² and on human chondrocytes.⁶⁷

We detected a time-dependent cytotoxicity of LA on tenocyte viability in vitro. Our results confirm previous findings, which demonstrated that 6 hours of exposure to bupivacaine (5.0 mg/mL) and ropivacaine (7.5 mg/mL) resulted in total cell death of human hamstring tenocytes. The cytotoxic effects were concentration- and time-dependent.²⁰ Other studies have also reported cytotoxic effects of bupivacaine (5.0 mg/mL) on human rotator cuff tenofibroblasts after 24 hours of exposure, as well as of ropivacaine (7.5 mg/mL).^{18,21} Lower concentrations of bupivacaine up to .05 mg/mL and 24 hours incubation time had no toxic effect, whereas concentrations of more than 2.5 mg/mL were cytotoxic.^{6,21} It can be concluded that the cytotoxic effect of LA on tenocytes depends on the substance (bupivacaine > ropivacaine), concentration and time of exposure. The same has been demonstrated for chondrocytes in various studies.^{1,3,6,7}

In our in vitro study, the time-dependent negative effect on cell viability of both bupivacaine and ropivacaine was particularly distinct after the long incubation time of 240 minutes. For bupivacaine, this reduction of tendon cell viability could not be observed in vivo, as shown in the study of Lehner et al., who compared cell viability after bupivacaine treatment in vitro and in vivo. In vitro, the rat tendon-derived cells were treated with bupivacaine (.5% for 10 minutes), while in vivo, the rats received a single peritendinous injections into the Achilles tendon.²⁴

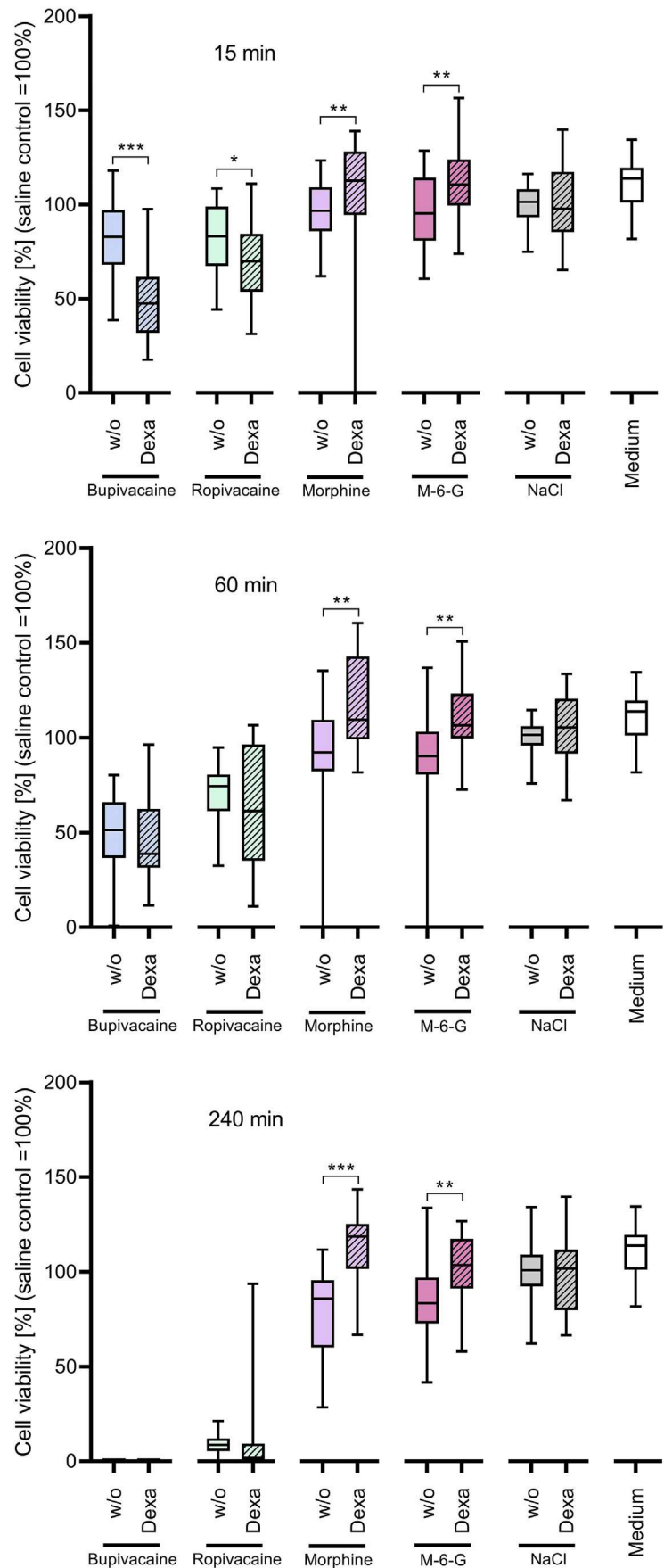


Fig 4. Influence of the addition of dexamethasone. Addition of dexamethasone to tenocytes after incubation with anesthetics for 15 minutes (A), 60 minutes (B), and 240 minutes (C). The box plots span the interquartile range. The vertical line inside the box represents the mean. The whiskers extend to the highest and lowest observations. Experiments reveal the means \pm SD of $n = 6$ wells per patient ($n = 6$ patients) for each time point and substance amounting to a total of 36 wells per time point and substance, except for M6G and M with only $n = 5$ patients after 60 minutes of exposure. Statistical significances are expressed as $*P < .05$; $**P < .01$; $***P < .001$.

Treatment of rat tendon-derived cells had detrimental effects on cell viability, which could be reduced by N-acetyl-L-cysteine or reduction of extracellular calcium. In vivo, single peritendinous injections had impairing effects on cells within areas of loose connective tissue and elicited considerable, although only temporary, functional damage. It could be shown that bupivacaine induces mitochondrial dysfunction, as well as overproduction of reactive oxygen species (ROS), which cause necrosis or apoptosis.^{3,24} Other studies also showed that the cytotoxic ROS-mediated effect is potentiated by a higher level of extracellular calcium.⁶⁸⁻⁷⁰ The reason for the different observations in vivo and in vitro is most likely the missing extracellular matrix, which may provide protection for tenocytes, thus mitigating the damaging effects observed using in vitro monolayer cell culture models, as postulated by Sherb et al.²²

In the present study, dexamethasone alone in a concentration of .23 mg/mL did not significantly affect the viability of tenocytes regardless of the duration of the exposure time. This observation is in line with previous studies with a similar experimental setup, which reported results for .25 mg/mL dexamethasone and 24 hours of incubation⁶ and for .8 mg/mL and 30 minutes of incubation.⁶⁶

Our results demonstrated that the tendotoxic effect of bupivacaine and ropivacaine could not be compensated for by the addition of dexamethasone. On the contrary, after incubation for 15 minutes, the tenocytes' viability decreased significantly with the addition of dexamethasone compared to incubation with the LA alone. However, after incubation for 60 minutes with LA and dexamethasone, no differences between the combination and the LA alone were detected. This corresponds to previous findings, in which the combined incubation with dexamethasone and ropivacaine (.8 mg/mL and 5.0 mg/mL) for 30 minutes also reduced the viability of bovine tenocytes significantly compared to ropivacaine alone.⁶⁶

In all probability, it is the different modes of action by which LA and opioids lead to analgesia that are responsible for the distinct difference in the cytotoxic effects on tenocytes. The opioids morphine and M6G act directly via the μ -opioid receptor as signaling agonists.^{71,72} Morphine has several different roles in cell protection and the modulation of cell death. In a review by Tegeader et al.,⁷³ several studies reported on the protective and proliferating effect of morphine on different cell types (i.e., immune cells, neurons and glia, endothelial cells and fibroblasts, tumor cells) at low concentrations, while relatively high concentrations in vitro, as well as chronic clinical opioid treatment can lead to inhibition of cell growth. So far, no studies have been published on whether these findings also apply to human tenocytes.

Regarding the mode of action, amide-type local anesthetics influence sodium channels in the cell membrane, leading to an overproduction of mitochondrial dysfunction, as well as overproduction of ROS, DNA damage, and apoptosis.^{3,68,69}

Regarding the clinical application of morphine, morphine was only added to a multimodal drug injection and admitted periarticularly. In the most recent study, a mixture of steroids, local anesthetics, NSAIDs, and epinephrine with or without morphine (.1 mg/kg) was injected periarticularly into randomly assigned patients ($n = 100$) after total hip arthroplasty. The results suggested that the addition of morphine to the multimodal cocktail injection after total hip arthroplasty was not effective for relieving postoperative pain, alleviating swelling, or improving range of motion.⁷⁴

Also, after total knee arthroplasty, the effect of morphine added to periarticular multimodal drug injection (PMDI) or spinal anesthesia on pain management and functional recovery was investigated in $n = 100$ patients in total. The data revealed that the efficacy of morphine added to periarticular multimodal drug injection was limited and that of morphine added to spinal anesthesia disappeared within 20 h postoperatively. Adding morphine to PMDI or spinal anesthesia did not improve functional recovery and caused some adverse effects.⁷⁵

Limitations

There are some limitations to this study. The tenocytes derived from a limited number of healthy individuals. Therefore, interindividual variation in tendon quality and susceptibility to cytotoxic agents cannot be excluded. The age range of the patients and was high (24-75 years). In clinical practice, mean patient age could be higher, resulting in even greater local anesthetic cytotoxicity.

The exposure time and the number of applications in a clinical setting can vary substantially between different individuals, physicians, and locations, due to many heterogeneous factors. We cannot exclude regeneration of the cells after a single exposure, nor can we exclude long-term detrimental effects of a single application to the cells due to the experimental setup.

Another limitation in this study is that only one concentration per local anesthetic was used in the experiments, although lower concentrations have also been used in clinical practice and studies that have lower cytotoxicity profiles (i.e., .25% bupivacaine and .2% ropivacaine).^{19,21,66} We focused on the concentrations that have been used in both clinical practice^{6,45,61,62} and previous studies^{18-20,60} and that are used for anesthesiological field blocks with LA. We used these known cytotoxic concentrations to be able to investigate possible compensatory effects of the addition of corticosteroids.

Conclusions

The results showed that amide-type local anesthetics have a time-dependent cytotoxic effect on human tenocytes in vitro, which could not be compensated for by dexamethasone. Morphine and M6G, on the other hand, were found to have no cytotoxic effects on tenocytes after 15 and 60 minutes of exposure. The addition of dexamethasone to morphine and M6G had a positive effect on the viability of tenocytes, which increased significantly compared to the opioids alone.

Acknowledgment

The authors thank Ms. Sabine Lensing-Höhn of the Orthopedic Department, University Hospital, Heinrich-Heine-University Düsseldorf for her technical assistance. We thank Ms. Kaye Schreyer for editorial assistance with the manuscript.

References

- Ickert I, Herten M, Vogl M, et al. Opioids as an alternative to amide-type local anaesthetics for intra-articular application. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2015;23:2674-2681.
- Farkas B, Kvell K, Czompoly T, Illes T, Bardos T. Increased chondrocyte death after steroid and local anesthetic combination. *Clin Orthop Relat Res* 2010;468:3112-3120.
- Grishko V, Xu M, Wilson G, Pearsall 4th AW. Apoptosis and mitochondrial dysfunction in human chondrocytes following exposure to lidocaine, bupivacaine, and ropivacaine. *J Bone Joint Surg Am* 2010;92:609-618.
- Dragoo JL, Korotkova T, Kanwar R, Wood B. The effect of local anesthetics administered via pain pump on chondrocyte viability. *Am J Sports Med* 2008;36:1484-1488.
- Kreuz PC, Steinwachs M, Angele P. Single-dose local anesthetics exhibit a type-, dose-, and time-dependent chondrotoxic effect on chondrocytes and cartilage: A systematic review of the current literature. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2018;26:819-830.
- Busse P, Vater C, Stiehler M, et al. Cytotoxicity of drugs injected into joints in orthopaedics. *Bone Joint Res* 2019;8:41-48.
- Breu A, Rosenmeier K, Kujat R, Angele P, Zink W. The cytotoxicity of bupivacaine, ropivacaine, and mepivacaine on human chondrocytes and cartilage. *Anesth Analg* 2013;117:514-522.
- Braun HJ, Wilcox-Fogel N, Kim HJ, Pouliot MA, Harris AH, Dragoo JL. The effect of local anesthetic and corticosteroid combinations on chondrocyte viability. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2012;20:1689-1695.
- Chu CR, Izzo NJ, Coyle CH, Papas NE, Logar A. The in vitro effects of bupivacaine on articular chondrocytes. *J Bone Joint Surg Br* 2008;90:814-820.
- Hansen BP, Beck CL, Beck EP, Townsley RW. Postarthroscopic glenohumeral chondrolysis. *Am J Sports Med* 2007;35:1628-1634.
- Serrato JA Jr, Fleckenstein CM, Hasan SS. Glenohumeral chondrolysis associated with use of an intra-articular pain pump delivering local anesthetics following manipulation under anesthesia: A report of four cases. *J Bone Joint Surg Am* 2011;93:91-98. e99.
- Matsen FA 3rd, Papadonikolakis A. Published evidence demonstrating the causation of glenohumeral chondrolysis by postoperative infusion of local anesthetic via a pain pump. *J Bone Joint Surg Am* 2013;95:1126-1134.
- Scheffel PT, Clinton J, Lynch JR, Warme WJ, Bertelsen AL, Matsen FA 3rd. Glenohumeral chondrolysis: A systematic review of 100 cases from the English language literature. *J Shoulder Elbow Surg* 2010;19:944-949.
- Bailie DS, Ellenbecker TS. Severe chondrolysis after shoulder arthroscopy: A case series. *J Shoulder Elbow Surg* 2009;18:742-747.
- Anderson SL, Buchko JZ, Taillon MR, Ernst MA. Chondrolysis of the glenohumeral joint after infusion of bupivacaine through an intra-articular pain pump catheter: A report of 18 cases. *Arthroscopy* 2010;26:451-461.
- McNickle AG, L'Heureux DR, Provencher MT, Romeo AA, Cole BJ. Postsurgical glenohumeral arthritis in young adults. *Am J Sports Med* 2009;37:1784-1791.
- Gulihar A, Robati S, Twaij H, Salih A, Taylor GJ. Articular cartilage and local anaesthetic: A systematic review of the current literature. *J Orthop* 2015;12:S200-210.
- Kim RJ, Hah YS, Kang JR, Park HB. Antioxidant's cytoprotective effects on rotator cuff tenofibroblasts exposed to aminoamide local anesthetics. *J Orthop Res* 2015;33:1001-1007.
- Sung CM, Hah YS, Kim JS, et al. Cytotoxic effects of ropivacaine, bupivacaine, and lidocaine on rotator cuff tenofibroblasts. *Am J Sports Med* 2014;42:2888-2896.
- Haasters F, Polzer H, Prall WC, et al. Bupivacaine, ropivacaine, and morphine: Comparison of toxicity on human hamstring-derived stem/progenitor cells. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2011;19:2138-2144.
- Zhang AZ, Ficklscherer A, Gulecyuz MF, et al. Cell toxicity in fibroblasts, tenocytes, and human mesenchymal stem cells—A comparison of necrosis and apoptosis-inducing ability in ropivacaine, bupivacaine, and triamcinolone. *Arthroscopy* 2017;33:840-848.
- Scherb MB, Han SH, Courneya JP, Guyton GP, Schon LC. Effect of bupivacaine on cultured tenocytes. *Orthopedics* 2009;32:26.
- Friel NA, Wang VM, Slabaugh MA, Wang F, Chubinskaya S, Cole BJ. Rotator cuff healing after continuous subacromial bupivacaine infusion: an in vivo rabbit study. *J Shoulder Elbow Surg* 2013;22:489-499.
- Lehner C, Gehwolf R, Hirzinger C, et al. Bupivacaine induces short-term alterations and impairment in rat tendons. *Am J Sports Med* 2013;41:1411-1418.
- Nuelle CW, Cook CR, Stoker AM, Cook JL, Sherman SL. In vivo toxicity of local anesthetics and corticosteroids on supraspinatus tenocyte cell viability and metabolism. *Iowa Orthop J* 2018;38:107-112.
- Steinmeyer J. [Drug therapy of arthrosis]. *Orthopade* 2001;30:856-865.
- Martin SD, Conaway WK, Lei P. Use of intra-articular corticosteroids in orthopaedics. *J Bone Joint Surg Am* 2018;100:885-891.
- Batu ED. Glucocorticoid treatment in juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol Int* 2019;39:13-27.

29. Bell AD, Conaway D. Corticosteroid injections for painful shoulders. *Int J Clin Pract* 2005;59:1178-1186.
30. Morita S, Oizumi N, Suenaga N, Yoshioka C, Yamane S, Tanaka Y. Dexamethasone added to levobupivacaine prolongs the duration of interscalene brachial plexus block and decreases rebound pain after arthroscopic rotator cuff repair. *J Shoulder Elbow Surg* 2020;29:1751-1757.
31. Pani N, Routray SS, Mishra D, Pradhan BK, Mohapatra BP, Swain D. A clinical comparison between 0.5% levobupivacaine and 0.5% levobupivacaine with dexamethasone 8 mg combination in brachial plexus block by the supraclavicular approach. *Indian J Anaesth* 2017;61:302-307.
32. Knezevic NN, Anantamongkol U, Candido KD. Perineural dexamethasone added to local anesthesia for brachial plexus block improves pain but delays block onset and motor blockade recovery. *Pain Physician* 2015;18:1-14.
33. Watanabe K, Tokumine J, Yorozu T, Moriyama K, Sakamoto H, Inoue T. Particulate-steroid betamethasone added to ropivacaine in interscalene brachial plexus block for arthroscopic rotator cuff repair improves postoperative analgesia. *BMC Anesthesiol* 2016;16:84.
34. Albrecht E, Vorobeichik L, Jacot-Guillarmod A, Fournier N, Abdallah FW. Dexamethasone is superior to dexmedetomidine as a perineural adjunct for supraclavicular brachial plexus block: Systematic review and indirect meta-analysis. *Anesth Analg* 2019;128:543-554.
35. Moeen SM, Ramadan IK, Elkady HA. Dexamethasone and dexmedetomidine as an adjuvant to intraarticular bupivacaine for postoperative pain relief in knee arthroscopic surgery: A randomized trial. *Pain Physician* 2017;20:671-680.
36. Heshmati F, Zeynali MB, Mohammad Zadeh KH, Mahouri AR. Intra-articular bupivacaine versus bupivacaine plus dexamethasone for analgesia after knee surgery. *Iran Red Crescent Med J* 2005;8:39-43.
37. Perdreau A, Duysens C, Joudet T. How periarticular corticosteroid injections impact the integrity of arthroscopic rotator cuff repair. *Orthop Traumatol Surg Res* 2020;106:1159-1166.
38. Hashimoto A, Sonohata M, Hirata H, et al. Periarticular analgesic injection containing a corticosteroid after total hip arthroplasty may prevent deep venous thrombosis: A retrospective comparative cohort study. *BMC Musculoskelet Disord* 2021;22:19.
39. Kim JI, Kim YT, Jung HJ, Lee JK. Does adding corticosteroids to periarticular injection affect the postoperative acute phase response after total knee arthroplasty? *Knee* 2020;27:493-499.
40. Peng H, Wang W, Lin J, Weng X, Qian W, Wang W. Local efficacy of corticosteroids as an adjuvant for periarticular cocktail injection in simultaneous bilateral total knee arthroplasty: A prospective randomized double-blind controlled trial. *Pain Res Manag* 2021;2021:5595095.
41. Wang Q, Tan G, Mohammed A, et al. Adding corticosteroids to periarticular infiltration analgesia improves the short-term analgesic effects after total knee arthroplasty: A prospective, double-blind, randomized controlled trial. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2021;29:867-875.
42. Kurosaka K, Tsukada S, Ogawa H, et al. Addition of corticosteroid to periarticular injections reduces postoperative pain following total hip arthroplasty under general anaesthesia: A double-blind randomized controlled trial. *Bone Joint J* 2020;102-B:1297-1302.
43. Pathonsamit C, Onklin I, Hongku N, Chaiyakit P. Randomized double-blind controlled trial comparing 0.2 mg, 0.1 mg, and no intrathecal morphine combined with periarticular injection for unilateral total knee arthroplasty. *Arthroplast Today* 2021;7:253-259.
44. Tammachote N, Kanitnate S, Manuwong S, Yakumpor T, Panichkul P. Is pain after TKA better with periarticular injection or intrathecal morphine? *Clin Orthop Relat Res* 2013;471:1992-1999.
45. Wei J, Lei GH, Gao SG, et al. Single-dose intra-articular bupivacaine versus morphine after arthroscopic knee surgery: A meta-analysis of randomized-controlled studies. *Clin J Pain* 2014;30:630-638.
46. Kalso E, Smith L, McQuay HJ, Moore AR. No pain, no gain: Clinical excellence and scientific rigour—Lessons learned from IA morphine. *Pain* 2002;98:269-275.
47. Gupta A, Bodin L, Holmstrom B, Berggren L. A systematic review of the peripheral analgesic effects of intraarticular morphine. *Anesth Analg* 2001;93:761-770.
48. Jaureguito JW, Wilcox JF, Cohn SJ, Thisted RA, Reider B. A comparison of intraarticular morphine and bupivacaine for pain control after outpatient knee arthroscopy. A prospective, randomized, double-blinded study. *Am J Sports Med* 1995;23:350-353.
49. Boden BP, Fassler S, Cooper S, Marchetto PA, Moyer RA. Analgesic effect of intraarticular morphine, bupivacaine, and morphine/bupivacaine after arthroscopic knee surgery. *Arthroscopy* 1994;10:104-107.
50. Brandsson S, Karlsson J, Morberg P, Rydgren B, Eriksson BI, Hedner T. Intraarticular morphine after arthroscopic ACL reconstruction: A double-blind placebo-controlled study of 40 patients. *Acta Orthop Scand* 2000;71:280-285.
51. Jaureguito JW, Wilcox JF, Thisted RA, Phillips C, Cunningham B, Reider B. The effects of morphine on human articular cartilage of the knee: An in vitro study. *Arthroscopy* 2002;18:631-636.
52. Anz A, Smith MJ, Stoker A, et al. The effect of bupivacaine and morphine in a coculture model of diarthrodial joints. *Arthroscopy* 2009;25:225-231.
53. van Dorp EL, Morariu A, Dahan A. Morphine-6-glucuronide: Potency and safety compared with morphine. *Expert Opin Pharmacother* 2008;9:1955-1961.
54. Klimas R, Mikus G. Morphine-6-glucuronide is responsible for the analgesic effect after morphine administration: A quantitative review of morphine, morphine-6-glucuronide, and morphine-3-glucuronide. *Br J Anaesth* 2014;113:935-944.
55. Case number estimation for unconnected samples and continuous target variables, <http://jumbo.uni-muenster.de/fileadmin/jumbo/applets/fallz.html>. Accessed April 7, 2016.
56. Wagenhauser MU, Pietschmann MF, Sievers B, et al. Collagen type I and decorin expression in tenocytes depend on the cell isolation method. *BMC Musculoskelet Disord* 2012;13:140.

57. Schulze-Tanzil G, Mobasheri A, Clegg PD, Sendzik J, John T, Shakibaei M. Cultivation of human tenocytes in high-density culture. *Histochem Cell Biol* 2004;122: 219-228.
58. Pauly S, Klatter F, Strobel C, et al. Characterization of tendon cell cultures of the human rotator cuff. *Eur Cell Mater* 2010;20:84-97.
59. Tian J, Li Y. Comparative effects of vitamin C on the effects of local anesthetics ropivacaine, bupivacaine, and lidocaine on human chondrocytes. *Braz J Anesthesiol* 2016;66:29-36.
60. Chiu CH, Chen P, Chen AC, et al. Real-time monitoring of ascorbic acid-mediated reduction of cytotoxic effects of analgesics and NSAIDs on tenocytes proliferation. *Dose Response* 2019;17:1559325819832143.
61. Marret E, Gentili M, Bonnet MP, Bonnet F. Intra-articular ropivacaine 0.75% and bupivacaine 0.50% for analgesia after arthroscopic knee surgery: A randomized prospective study. *Arthroscopy* 2005;21:313-316.
62. Zhou Y, Yang TB, Wei J, et al. Single-dose intra-articular ropivacaine after arthroscopic knee surgery decreases post-operative pain without increasing side effects: A systematic review and meta-analysis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2016;24:1651-1659.
63. Datapharm, <https://www.medicines.org.uk/emc/product/1498/smpc>. Naropin. Accessed March 15, 2018.
64. Datapharm, <https://www.medicines.org.uk/emc/product/3619/smpc>. Bupivacaine. Accessed March 15, 2018.
65. Ozturk SS, Palsson BO. Effect of medium osmolarity on hybridoma growth, metabolism, and antibody production. *Biotechnol Bioeng* 1991;37:989-993.
66. Piper SL, Laron D, Manzano G, et al. A comparison of lidocaine, ropivacaine and dexamethasone toxicity on bovine tenocytes in culture. *J Bone Joint Surg Br* 2012;94: 856-862.
67. Abrams GD, Chang W, Dragoo JL. In vitro chondrotoxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and opioid medications. *Am J Sports Med* 2017;45:3345-3350.
68. Yu XJ, Zhao W, Li YJ, et al. Neurotoxicity comparison of two types of local anaesthetics: Amide-bupivacaine versus ester-procaine. *Sci Rep* 2017;7:45316.
69. Unami A, Shinohara Y, Ichikawa T, Baba Y. Biochemical and microarray analyses of bupivacaine-induced apoptosis. *J Toxicol Sci* 2003;28:77-94.
70. Hung YC, Suzuki S, Chen CC, et al. Calcium chloride prolongs the effects of lidocaine and bupivacaine in rat sciatic nerve. *Reg Anesth Pain Med* 2009;34:333-339.
71. Sverrisdottir E, Lund TM, Olesen AE, Drewes AM, Christrup LL, Kreilgaard M. A review of morphine and morphine-6-glucuronide's pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships in experimental and clinical pain. *Eur J Pharm Sci* 2015;74:45-62.
72. Beyer A, Koch T, Schroder H, Schulz S, Holt V. Effect of the A118G polymorphism on binding affinity, potency and agonist-mediated endocytosis, desensitization, and resensitization of the human mu-opioid receptor. *J Neurochem* 2004;89:553-560.
73. Tegeder I, Geisslinger G. Opioids as modulators of cell death and survival—Unraveling mechanisms and revealing new indications. *Pharmacol Rev* 2004;56: 351-369.
74. Iwakiri K, Ohta Y, Minoda Y, Kobayashi A, Nakamura H. Effect of periarticular morphine injection for total hip arthroplasty: a randomised, double-blind trial. *Hip Int* 2019;29:245-252.
75. Miyamoto S, Sugita T, Aizawa T, et al. The effect of morphine added to periarticular multimodal drug injection or spinal anesthesia on pain management and functional recovery after total knee arthroplasty. *J Orthop Sci* 2018;23:801-806.

3 Diskussion

3.1 Bupivacain und Ropivacain

In der eigenen Studie konnte gezeigt werden, dass es bei humanen Tenozyten in der Zellkultur nach Exposition mit Bupivacain zu einer zeitabhängigen Schädigung kommt. Nach einer Inkubation von 15 und 60 Minuten waren nur noch 81 bzw. 49 % der Tenozyten vital. Nach 240 Minuten fanden sich keine vitalen Zellen mehr. Für Ropivacain konnte ein ähnliches Ergebnis gezeigt werden, wobei die toxischen Effekte etwas geringer ausgeprägt waren. Nach 240 Minuten lag der Anteil der vitalen Zellen zumindest noch bei 9 %.

Im Rahmen dieses Zellkultur-Experiments konnten die Ergebnisse einer früheren Studie untermauert werden. Scherb et al. hatten in einem ähnlichen Untersuchungsansatz (humane Tenozyten in Zellkultur) gezeigt, dass nach Exposition mit Bupivacain die Produktion von extrazellulären Matrix-Komponenten (Kollagen, Proteoglykan) signifikant vermindert war (Scherb et al. 2009). Dies ließ bereits einen negativen Einfluss auf die Tenozyten erkennen, wenngleich hier nicht auf die Vitalität der Zellen fokussiert wurde.

Der zytotoxische Effekt von Bupivacain und Ropivacain wurde später jedoch von Haasters et al. nachgewiesen. Im Zellkultur-Experiment mit Tenozyten, die aus humanen Sehnen gewonnen wurden, konnte gezeigt werden, dass die beiden Lokalanästhetika mit einer ausgeprägten zellschädigenden Reaktion verbunden waren. Eine Inkubationsdauer von sechs Stunden (360 Min.) führte bei Konzentrationen von 0,5 % (Bupivacain) und 0,75 % (Ropivacain) zu einem kompletten Verlust der Vitalität, womit eine gute Übereinstimmung mit dem eigenen Befund gegeben war. Interessant war, dass die Ropivacain-Konzentration von 0,5 % keine Vitalitätsverluste der Tenozyten verursachte (Haasters et al. 2011).

In einem Experiment mit humanen Chondrozyten trat nach der Ropivacain-Konzentration von 0,5 % ebenfalls keine Verminderung der Vitalität auf (Dragoo et al. 2012a). Dies ist insofern von großem Belang, als dass Ropivacain in dieser Konzentration bei Patienten nach Knieoperationen eine vergleichbare Schmerzreduktion bewirken kann, wie Bupivacain in 0,5 %iger Konzentration (Convery et al. 2001). Außerdem konnte im auch im Hinblick auf

die Chondro- und Neurotoxizität gezeigt werden, dass der negative Effekt von Ropivacian geringer ist als jener von Bupivacian (Piper und Kim 2008; Werdehausen et al. 2009; Grishko et al. 2010; Breu et al. 2013; Ickert et al. 2015; Busse et al. 2019). Dieser Vorteil wird allerdings vermutlich relativiert, wenn höhere Ropivacian-Konzentrationen (z.B. 0,75 %) zum Einsatz kommen.

Dass Lokalanästhetika wie Bupivacian und Ropivacain zur Apoptose von Tenozyten führen, konnte in Ergänzung zu Haasters et al. auch von anderen Autoren gezeigt werden, wobei es sich auch hier um *in vitro*-Studien mit humanen Zellen (Zellkultur) handelte (Kim et al. 2015; Zhang et al. 2017; Busse et al. 2019). Wiederum wurde deutlich, dass die Toxizität von Ropivacian geringer war, vor allem bei Dosierungen im unteren Bereich (bis 0,5 %) (Zhang et al. 2017). Davon abgesehen konnte auch *in vivo* (Studie an Ratten-Sehnen) nach einmaliger Bupivacian-Applikation (0,5 %) eine zumindest passagere Alteration beobachtet werden, die mit einer Verminderung biomechanischen Stabilität verbunden war (Lehner et al. 2013).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass Lokalanästhetika wie Bupivacain mit einer zeit- und dosisabhängigen Zytotoxizität einhergehen, die auch Tenozyten bzw. die Funktionalität und Stabilität von Sehnen (und vermutlich Bändern) mit einschließt. Eine ursächliche Rolle spielt hierbei, dass Lokalanästhetika bei vielen Zellarten eine Erhöhung der intrazellulären Kalzium- und Kaliumkonzentrationen induzieren, die wiederum sowohl eine Nekrose als auch eine Apoptose auslösen können (Piper et al. 2011; Ahrens und Leffler 2014; Kreuz et al. 2017).

Zu berücksichtigen ist, dass Zellkultur-Experimente nur bedingt mit Untersuchungen *in vivo* oder am Sehnenpräparat vergleichbar sind, da in der Zellkultur die extrazelluläre Matrix fehlt, die vermutlich einen Schutz der Tenozyten darstellt (Scherb et al. 2009). Andererseits ist nicht auszuschließen, dass Lokalanästhetika, neben dem toxischen Einfluss auf die Tenozyten, auch einen negativen Einfluss auf das Sehngewebe insgesamt oder bestimmte Bestandteile der Matrix haben.

3.2 Glukokortikoide

Im Rahmen dieser Studie wurde auch Dexamethason mit einbezogen; einerseits, um dessen Effekt auf die Tenozyten zu untersuchen und andererseits, um zu überprüfen, ob und inwiefern dieses Glukokortikoid in der Lage ist, den negativen Effekten von Lokalanästhetika entgegenzuwirken. Dieser Aspekt war insofern von Relevanz, als dass Glukokortikoide häufig zur Behandlung von lokalen Behandlung von muskuloskelettalen Erkrankungen, inklusive Tendopathien, eingesetzt werden (Coombes et al. 2010). Gemäß einer nicht mehr ganz aktuellen Erhebung aus den USA wurden über 40 % der Arthrose-Patienten als konservative Maßnahme vor dem späteren Kniegelenk-Ersatz mit intraartikulär verabreichten Corticosteroiden behandelt (Dhawan et al. 2014). Die intraartikuläre Injektion von Corticosteroiden wird außerdem von einigen Fachgesellschaften, wie zum Beispiel vom American College of Rheumatology, empfohlen, sofern andere Maßnahmen nicht erfolgreich sind (Farkas et al. 2010).

Solche Empfehlungen werden jedoch nicht widerspruchsfrei akzeptiert. Einige Autoren raten von einer intraartikulären Corticosteroid-Therapie dringend ab, da wegen der potenziellen Chondrolyse das Krankheitsbild im Falle einer Arthrose verstärkt werden kann, oder falls der Gelenkknorpel noch intakt ist, eine Arthrose ausgelöst wird (Fubini et al. 2001; Farkas et al. 2010; Braun et al. 2012; Jüni et al. 2015; McAlindon et al. 2017). Andererseits wurde berichtet, dass geringere Dosierungen von Corticosteroiden einen chondroprotektiven Effekt aufweisen und möglicherweise die Progression von Knorpelschädigungen verzögern können (Pelletier et al. 1995; Raynauld 1999; Larsson et al. 2004; Farkas et al. 2010). Davon abgesehen scheint es auch Unterschiede zwischen den verschiedenen Corticosteroiden im Hinblick auf deren Toxizität zu geben (Farkas et al. 2010). In diesem Zusammenhang wiesen Puzzitiello et al. in einer aktuelleren Übersicht darauf hin, dass sowohl mit positiven als auch mit negativen Effekten gerechnet werden muss (Puzzitiello et al. 2020). Davon abgesehen kamen die Autoren eher zu dem Schluss, dass Corticosteroide den Heilungsprozess stören können und die Progression von Tendinopathien über verschiedene Mechanismen verstärken.

Im Tierversuch wurden bereits nach einmaliger Applikation Schädigungen der Sehne mit biomechanischer Beeinträchtigung beobachtet, wenngleich diese auch reversibel waren (Mikolyzk et al. 2009). Davon abgesehen wurde auch in einer Metaanalyse der Nutzen einer lokalen Corticosteroid-Therapie infrage gestellt, wobei zwar ein kurzfristiger positiver Effekt eingeräumt wurde, ein langfristiger hingegen nicht belegt werden konnte (Knobloch 2016). Zwar wurde nur bei einem von etwa 1.000 Patienten eine Sehnenruptur beobachtet, vor dem Hintergrund der häufigen Anwendung von lokalen Corticosteroiden in der Praxis scheint diese Quote jedoch dennoch hoch (Kirchgesner et al. 2014).

Die lokale Verabreichung alleine oder zusammen mit Lokalanästhetika ist bei muskuloskelettalen Erkrankungen eine weit verbreitete Methode (Farkas et al. 2010). Nach den Angaben von Dean und Carr wurden bereits vor mehr als 10 Jahren alleine in England (UK) pro Jahr über 500.000 intraartikuläre Corticosteroid-Injektionen vorgenommen (Dean und Carr 2016a). Das primäre Ziel dabei ist es, Inflammationen und Schmerzen bei einer Vielzahl an muskuloskelettalen Erkrankungen zu verringern oder im Idealfall komplett auszuschalten. Häufig ist dies bei Tendinopathien, Arthrosen oder Arthritiden der Fall. Im Hinblick auf Tendinopathien geht man davon aus, dass bei deren Pathogenese entzündliche Veränderungen eine tragende Rolle spielen, was die Indikation für Corticosteroide insoweit rechtfertigen würde (Millar et al. 2010; Rees et al. 2014; Dean und Carr 2016a). Nicht ganz unumstritten ist allerdings die Frage, inwiefern solche Therapien nachhaltig sind. Eine Reihe von Studien lässt erkennen, dass die Wirkung von nur kurzer Dauer ist, weshalb eine Nutzen-Risiko-Analyse immer indiziert ist. Es scheint die Gefahr zu bestehen, dass langfristig der Schaden oft größer als der Nutzen ist (Coombes et al. 2010; Coombes et al. 2013; Dean et al. 2014).

Bei einer Dexamethason-Konzentration von 0,23 mg/ml konnte in der eigenen Studie allerdings keine signifikante Verminderung der Tenozyten-Vitalität in der Zellkultur beobachtet werden, weder kurzfristig noch im längeren Verlauf von 240 Minuten. Das Ergebnis war insofern in Übereinstimmung einer ähnlichen Untersuchung, als dass dort für Triamcinolon bei Verdünnungen von 1:10 und 1:100 keine signifikante Verminderung der Zellzahlen aufgezeigt werden konnten. Bei einer geringen Verdünnung von 1:2 war die Toxizität

gegenüber den Tenozyten allerdings vergleichbar mit Bupivacain (Busse et al. 2019). Zuvor hatten auch Piper et al. bei bovinen Tenozyten in Zellkultur beobachten können, dass die alleinige Zugabe von Dexamethason keinen negativen Effekt hatte. Es zeigte sich jedoch, dass die Toxizität von Ropivacain durch die gleichzeitige Applikation des Glukokortikoids verstärkt wurde. Ropivacain alleine (0,2 und 0,5 %) hingegen ließ keinen tenotoxischen Effekt erkennen (Piper et al. 2012).

Unabhängig von den eigenen sowie den hier zitierten Ergebnissen kann nicht ausgeschlossen werden, dass sowohl Lokalanästhetika als auch Glukokortikoide zur Alteration von Sehnen führen können. So wurden bereits Ende der 1950er und Anfang der 1960er Jahre Fallberichte von Sehnenrupturen (zunächst meist Achillessehne) nach systemischer Behandlung mit Corticosteroiden publiziert. In der Folge mehrten sich auch Beobachtungen von Rupturen nach lokalen Infiltrationen, die mit einer Latenz von einigen Wochen auftraten (Knobloch 2016) (Abb. 3).

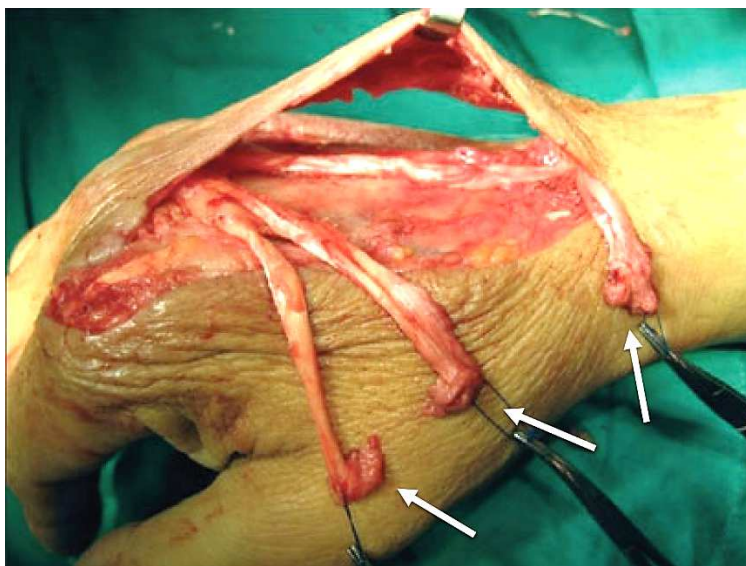


Abb. 3: Sehnenrupturen von Extensoren der Hand.

Die Rupturen traten nach zwei Injektionen von Corticosteroiden in die Sehnen-scheiden auf. Es wurde eine Transplantation von Sehnen erforderlich (Knobloch 2016).

3.3 Lokalanästhetika und Glukokortikoide

Im Zuge dieser Untersuchung sollte geprüft werden, ob und inwiefern die Zelltoxizität von Lokalanästhetika durch die Zugabe von Dexamethason reduziert oder vermindert werden kann. Es zeigte sich, dass eine solche Kompensation nicht gegeben war. Vielmehr führte die Zugabe des Glukokortikoids nach 15 Minuten sogar zu einer signifikanten Verminderung der Vitalität von Tenozyten, die ausgeprägter war als nach alleiniger Exposition mit dem Lokalanästhetikum. Nach 60 Minuten war der negative Effekt durch die Zugabe von Dexamethason allerdings nicht mehr nachzuweisen.

Das eigene Ergebnis war in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Piper et al., deren Studie weiter oben bereits zitiert wurde. Es konnte gezeigt werden, dass die tenotoxischen Eigenschaften von Ropivacain durch Zugabe von Dexamethason signifikant verstärkt werden, wobei das Glukokortikoid alleine keinen Einfluss auf die Zellvitalität hatte (Piper et al. 2012). Letzteres steht allerdings im Widerspruch zu Studien, in denen die Chondrotoxizität untersucht worden war. Hier zeigte sich sowohl in der Zellkultur (Monolayer) als auch bei Untersuchung von Gewebeblöcken, dass das Glukokortikoid (hier Triamcinolon) auch bei alleiniger Gabe schädigende Eigenschaften aufwies. Bemerkenswert war jedoch, dass in diesem Fall durch die Kombination mit Bupivacain keine Verstärkung dieses Effektes zu beobachten war (Syed et al. 2011). Corticosteroide führen folglich nicht immer zu einer Verstärkung der Zelltoxizität von Lokalanästhetika.

Es wird deutlich, dass es zwischen verschiedenen Studien große Unterschiede geben kann, die teilweise sogar gegensätzlich sind. So konnte in einer weiteren Untersuchung gezeigt werden, dass sich die Toxizität von Lokalanästhetika gegenüber den Chondrozyten vermindert, wenn Corticosteroide zur Zellkultur hinzugegeben werden. Konkret war dies für Triamcinolon der Fall, welches die Toxizität von Mepivacain verminderte (Bolt et al. 2008). Offen bleibt an dieser Stelle die Frage, ob hier die Art des Lokalanästhetikums oder des Glukokortikoids eine Rolle spielt. Beobachtungen im Zusammenhang mit einem bestimmten Lokalanästhetikum (hier Mepivacain) müssen sich nicht zwingend auf andere Substan-

zen dieser Gruppe übertragen lassen. Hinzu kommt, dass es sich bei Bolt et al. um Knorpelmaterial von Pferden handelte, so dass auch die Frage offen bleibt, inwiefern Unterschiede zwischen verschiedenen Spezies bzw. zwischen Menschen und Tieren bestehen. Nicht zuletzt dürfte es auch eine Rolle spielen, ob es sich um Zellkulturen (Monolayer) oder, wie im Falle von Bolt et al., um Knorpelmaterial handelt. Wie bereits erwähnt fehlt in der Zellkultur die schützende Wirkung der Matrix, welche die Zellen (Chondrozyten oder Tenozyten) umgibt.

Auch Zhang et al. wiesen explizit darauf hin, dass sich zell-basierte *in vitro*-Modelle nicht ohne Weiteres in die pathophysiologischen Verhältnisse einer realen biologischen Umgebung übertragen lassen, wo Faktoren wie entzündliche Veränderungen oder Veränderungen der Durchblutung eine Rolle spielen, die im Labormedium nicht simuliert werden können. Untersuchungen an einfachen oder einlagigen Zellschichten unterscheiden sich in vielerlei Hinsicht von Ligamenten oder anderen Strukturen als Ganzes, die um ein Vielfaches komplexer sind (Zhang et al. 2017).

Dass solche Faktoren eine Rolle spielen ergibt sich zum Beispiel aus einer Studie, in der wiederum synergistische Effekte im Sinne einer Verstärkung der chondrotoxischen Wirkung festgestellt werden konnten. In diesem Fall wurde die Chondrotoxizität von Lidocain durch Methylprednisolon verstärkt; beim Setting handelte es sich um bovine Chondrozyten in einer Zellkultur (Seshadri et al. 2009).

Zusammenfassend lässt sich an dieser Stelle festhalten, dass Glukokortikoide bisweilen bei alleiniger Applikation keinen zytotoxischen Effekt aufweisen. Gleichzeitig liegen Hinweise auf Teno- und Chondrotoxizität vor. Bei Kombination mit Lokalanästhetika haben Glukokortikoide zum Teil keinen zusätzlichen negativen Effekt, zum Teil wird die Zytotoxizität jedoch verstärkt. Und nicht zuletzt liegen auch vereinzelte Hinweise darauf vor, dass sich die zytotoxischen Eigenschaften der Lokalanästhetika durch Glukokortikoide abschwächen lassen.

3.4 Morphin

Es ist mittlerweile anhand von zahlreichen Untersuchungen belegt, dass Lokalanästhetika zytotoxische Eigenschaften besitzen. Es liegen auch Hinweise dafür vor, dass die Schädigungen von Chondrozyten und Tenozyten, wie sie *in vitro* beobachtet werden konnten, auch klinisch von Bedeutung sind. Unabhängig davon, dass sich die verschiedenen Lokalanästhetika im Hinblick auf die Zytotoxizität unterscheiden und außerdem eine Zeit- und Dosisabhängigkeit besteht, ist deshalb die Frage nach Alternativen von Bedeutung. Dies gilt umso mehr, als dass in einem aktuellerem *in vitro*-Experiment gezeigt werden konnte, dass Lokalanästhetika wie Bupivacain nicht nur die Überlebensfähigkeit von Zellen beeinträchtigen, sondern dass auch die Differenzierungs-Kapazität von Stamm- und Vorläuferzellen (Tenozyten, Chondrozyten) gestört ist. Solche Effekte könnten im Hinblick auf die Regeneration nach Verletzungen und operativen Eingriffen eine bedeutende Rolle spielen (Kim et al. 2020). Vor diesem Hintergrund sollte im Rahmen der eigenen Untersuchung geprüft werden, inwiefern Morphin oder dessen aktiver Metabolit Morphin-6-Glucuronid als stark wirksame Analgetika eine verträgliche Alternative darstellen könnten, insbesondere im Hinblick auf die lokale Verabreichung bei Tendinopathien. Morphin-6-Glucuronid ist hierbei insbesondere deshalb von Interesse, weil es, zumindest zentral, eine größere analgetische Wirksamkeit aufweist als Morphin (Osborne et al. 2000).

Im Rahmen der eigenen Untersuchung konnte nach 15 und 60 Minuten keine signifikante Tenozytotoxizität nach Inkubation der Zellen mit Morphin (0,05 %) oder Morphin-6-Glucuronid (0,05 %) beobachtet werden. Nach 240 Minuten trat allerdings für beide Substanzen eine signifikante Verminderung der Zell-Vitalität gegenüber der Kontrolle (Salzlösung) auf. Die Rate der vitalen Tenozyten reduziert sich auf 79 bzw. 86 %. Dies entsprach in etwa jenem Effekt, wie er für Bupivacain bereits nach 15 Minuten ermittelt werden konnte (zur Erinnerung: nach 240 Minuten reduzierte sich die Zell-Vitalität unter Bupivacain auf 0 %). In dieser Hinsicht war die Zelltoxizität der beiden Opiate als gering zu bewerten. Die klinische Relevanz dürfte vernachlässigbar und gering sein, zumal *in vitro*-Experimente nicht direkt mit den realen Bedingungen *in vivo* vergleichbar sind. Bei der peritendinösen Infiltration sind die Tenozyten in eine Matrix aus Kollagen und anderen Substanzen eingebettet. Dieser

Sachverhalt wurde auch bereits im Zusammenhang mit der Chondrotoxizität festgestellt. Davon abgesehen ist anzunehmen, dass die Tenozyten durch die Medikation als erstes affiziert werden, noch bevor es zu histologischen und biomechanischen Veränderungen kommt. Dies hängt damit zusammen, dass Tenozyten maßgeblich für die Aufrechterhaltung der extrazellulären Matrix verantwortlich sind. Störungen dieser Zellen führen deshalb zur Beeinträchtigung der strukturellen Integrität der Sehnen (Wong et al. 2004; Zhang et al. 2022).

Dass Morphin keine oder allenfalls geringe zelltoxische Eigenschaften aufweist konnte in einem ähnlichen Ansatz wie in der eigenen Studie auch für Chondrozyten gezeigt werden (Anz et al. 2009). Dies konnte ferner auch im Tierversuch (Pferd) bestätigt werden (Rubio-Martínez et al. 2017). In der Untersuchung von Anz et al. hatten sich ferner Hinweise dafür ergeben, dass Morphin antiinflammatorische Eigenschaften aufweisen könnte, was für den Einsatz bei Tendinopathien sprechen würde.

Davon abgesehen, dass Morphin und Morphin-6-Glucuronid im längerfristigen Beobachtungsverlauf nur einen geringen negativen Einfluss auf die Vitalität der Tenozyten hatten, war bemerkenswert, dass sich dieser Einfluss durch die Kombination mit Dexamethason vollständig aufheben ließ. Dies ist insofern von Bedeutung, als dass in verschiedenen Studien beobachtet werden konnte, dass Corticosteroide chondrotoxische Eigenschaften aufweisen können, wie weiter oben dargestellt.

Neben den beschriebenen chondrotoxischen Effekten wurden im Zusammenhang mit lokalen Corticosteroiden auch Hinweise auf Schädigungen der Tenozyten festgestellt, wodurch es zu Beeinträchtigungen von deren extrazellulärer Matrix, inkl. der Kollagensynthese und somit des Bindegewebes kommen kann. Sowohl *in vitro* als auch *in vivo* konnten pathologische Veränderungen inkl. Nekrosen beobachtet werden, wobei sich der Versuch, eine Tendinopathie zu behandeln, im ungünstigsten Fall ins Gegenteil verkehren kann. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass sich durch Corticosteroide die mechanischen Eigenschaften (Resistenz gegenüber Zugkräften) verschlechtern (Wong et al. 2004; Dean und Carr 2016b). Insbesondere Tendinopathien sollten vor dem Hintergrund der vorliegenden Beobachtungen eher zurückhaltend mit Corticosteroiden behandelt werden

(Dean et al. 2014). Dass Corticosteroide möglicherweise etwaige zelltoxische Effekte von Morphin oder Morphin-6-Glucuronid aufheben können, dürfte deren Nachteile nicht ausgleichen. Andererseits konnte im eigenen Untersuchungs-Setting zumindest für Dexamethason kein negativer Einfluss auf Tenozyten aufgezeigt werden. Der Aspekt bedarf folglich sicherlich noch weitergehender Untersuchungen.

In einer sehr aktuellen Fall-Kontroll-Studie wiederum wurde für Patienten nach Corticosteroid-Injektionen im Schulterbereich (wegen Schulterschmerzen) ein mehr als 7-fach höheres Risiko für Läsionen der Rotatorenmanschette ermittelt als für Patienten ohne eine solche Intervention. Etwa jeder 10. Patienten (9,8 %) entwickelte unter der Corticosteroid-Behandlung eine Ruptur der Rotatorenmanschette, gegenüber 1,2 % in der Kontrollgruppe (Lin et al. 2022). In einer früheren Studie konnte ein solcher Zusammenhang jedoch nicht aufgezeigt werden. Allerdings wurde hier ein anderweitiger Vergleich durchgeführt: Patienten mit weniger als drei Injektionen vs. drei oder mehr. Außerdem war die Ruptur-Rate in den beiden Gruppen mit jeweils etwa 50 % ungewöhnlich hoch (Bhatia et al. 2009). Im Übrigen scheinen die toxischen Effekte bzw. deren Ausmaß davon abhängig zu sein, welches Corticosteroid zum Einsatz kommt, wobei zum Beispiel Dexamethason vermutlich besser verträglich ist als Triamcinolon (Piper et al. 2012). Dies würde auch das eigene Ergebnis erklären, wobei jedoch vermutlich die jeweilige Dosierung bzw. die Konzentration in der Lösung ebenso eine entscheidende Rolle zu spielt. Bei der intraartikulären Injektion ist folglich auch mit zu berücksichtigen, welches Gelenk behandelt werden soll: je größer das Gelenk, desto größer ist auch das Volumen der Gelenkflüssigkeit und infolgedessen auch der Grad der Verdünnung (bzw. der Konzentration) (Busse et al. 2019). Davon abgesehen scheint eine Regeneration der Schädigungen möglich zu sein, wobei dies vor allem von der Dosierung, aber auch von der Behandlungsdauer bzw. der Anzahl der Behandlungsintervalle abhängig ist (Harada et al. 2014).

Es bleibt auch an dieser Stelle unklar, inwiefern Corticosteroide einen toxischen Einfluss auf Tenozyten (oder Chondrozyten) haben, wenn sie in Kombination mit anderen Substanzen, wie zum Beispiel Opiaten, lokal verabreicht werden. Vor dem Hintergrund der Daten

scheint sowohl ein negativer als auch ein neutraler oder sogar ein positiver Einfluss möglich, wobei Letzteres eher schwach untermauert ist. Da Corticosteroide per se vermutlich einen negativen Einfluss auf Tenozyten bzw. das Sehngewebe haben, ist anzunehmen, dass diese nicht dazu geeignet sind, die toxischen Eigenschaften anderer Substanzen zu vermindern. In der eigenen Studie waren die Beobachtungen in dieser Hinsicht jedoch konträr. So wurde die Toxizität von Bupivacain und Ropivacain durch Dexamethason verstärkt, jene von Morphin und Morphin-6-Glucuronid hingegen aufgehoben, wobei der negative Einfluss der Opiate allerdings ohnehin nur gering war und nur im längerfristigen Verlauf nachgewiesen werden konnte.

Abschließend sei an dieser Stelle im Zusammenhang mit der entzündungshemmenden Wirkung der Corticosteroide noch darauf hingewiesen, dass für die normale Heilungsreaktion von affektierten Sehnen in gewissem Umfang eine inflammatorische Reaktion notwendig ist. Dies soll vor allem in den frühen Phasen, also vor Beginn der Proliferation und dem Umbau des Gewebes der Fall sein (Puzzitiello et al. 2020). Inwiefern dies letztlich praxisrelevant ist, müsste allerdings noch näher untersucht werden. Dies gilt auch für die Frage der Wahl des Präparates, das für die Therapie einer Tendinopathie gewählt wird; ferner für die Frage des Zeitpunktes und der Therapiedauer sowie der Dosierung.

3.5 Schlussfolgerung und Ausblick

Im Rahmen dieser Studie konnte auch im Hinblick auf Tenozyten untermauert werden, dass Lokalanästhetika *in vitro* einen starken toxischen Einfluss haben, der sich durch Dexamethason nicht vermindern ließ. Vielmehr wurde die Vitalität der Zellen in Gegenwart des Corticosteroids stärker alteriert als durch Bupivacain oder Ropivacain alleine. Anders als in einigen Studien gezeigt wies Dexamethason bei alleiniger Gabe keinen toxischen Effekt auf. Außerdem konnte bei Kombination von Dexamethason und Morphin bzw. Morphin-6-Glucuronid gezeigt werden, dass der negative Effekt der Opiate durch das Corticosteroid aufgehoben wurde.

Insgesamt ist vor dem Hintergrund der eigenen Beobachtungen und den Ergebnissen aus der Literatur vor einer Kombination aus Lokalanästhetikum und Corticosteroid eher abzuraten, wenn bei Tendinopathien eine lokale Therapie notwendig wird. Es ist anzunehmen, dass beide Substanzgruppen sowohl in Kombination als auch unabhängig voneinander zytotoxische Eigenschaften aufweisen (Braun et al. 2012).

Die Datenlage ist hierbei zwar nicht so umfassend wie im Hinblick auf die potenzielle Schädigung der Knorpelzellen, es liegen allerdings einige Hinweise darauf vor, dass die lokale Behandlung mit Corticosteroiden zu Degenerationen der Ligamente führen kann. Dies ist vor allem dann der Fall, wenn zum Beispiel zur Behandlung von Tendinopathien (z.B. Schulter-Arm-Syndrom, Epikondylitis oder patellare Tendinopathie) wiederholte Infiltrationen stattfinden, um der Entzündung und dem Schmerz entgegenzuwirken. So betrachtet wären solche Interventionen kontraproduktiv, weil sie das eigentliche Krankheitsbild (z.B. die Tendinopathie) verschlechtern können. Kurz- oder mittelfristige Behandlungserfolge könnten folglich bei einzelnen Patienten längerfristig genau jene Pathologien auslösen, die im Grunde beseitigt werden sollten (Blanco et al. 2005; Abate et al. 2017). Insgesamt scheinen schwerere Tendinopathien, etwa im Sinne von Rupturen, jedoch nicht sehr häufig aufzutreten. Ferner kann der kausale Zusammenhang zwischen Corticosteroiden und Schädigungen der Sehnen und Bänder nicht als gesichert betrachtet werden. Dies gilt umso mehr, als dass verschiedene Krankheiten, die mit Corticosteroiden behandelt werden, selbst mit Tendinopathien assoziiert sein können (z.B. rheumatoide Arthritis) (Blanco et al. 2005). Allgemein ist zu berücksichtigen, dass entzündliche Veränderungen von Gelenken und Ligamenten, die vielfach die Indikation zur antiinflammatorischen Therapie darstellen, vermutlich selbst zu lokalen Schädigungen im Sinne einer Tendinopathie führen können. Es liegt also eine mögliche kausale Verbindung zwischen (lokalen) Inflammationen und Tendinopathien vor. Dies schließt jedoch wiederum nicht sicher aus, dass auch die Behandlung selbst, in diesem Fall die Corticosteroid-Therapie, Degenerationen der Ligamente verursachen kann (Mosca et al. 2018). So konnte experimentell gezeigt werden, dass pro-inflammatorische Mediatoren, wie zum Beispiel Prostaglandine, eine wichtige Rolle bei den Heilungsprozessen von Ligamenten spielen; deren Suppression durch Corticosteroide kann folglich

auch kontraproduktiv sein (Chan und Fu 2009). Außerdem haben sich Hinweise dafür ergeben, dass Corticosteroide die Differenzierung von Stammzellen zu Tenozyten inhibieren; ferner kann auch die Kollagensynthese vermindert sein, was möglichen Heilungsprozessen entgegenwirkt (Abate et al. 2017).

Insgesamt ist zu berücksichtigen, dass es sich bei Tendinopathien meist um ein multifaktorielles Geschehen handelt, bei dem auch Einflussgrößen wie Alter, Genetik oder Belastung (Über- oder Fehlbelastung) eine tragende Rolle spielen (Abate et al. 2017; Mosca et al. 2018). Und Glucocorticoide haben vermutlich sowohl einen positiven als auch einen negativen Einfluss auf Sehnen und Bandapparate (Chan und Fu 2009; Dean et al. 2014). Abate et al. stellen in diesem Zusammenhang die Hypothese auf, dass in der Frühphase der Nutzen überwiegt, währenddessen im chronischen Verlauf eher mit Nachteilen zu rechnen ist. Die Autoren wiesen auch auf den möglichen negativen Zusammenhang bei der gleichzeitigen Anwendung von Lokalanästhetika hin, wodurch degenerative Effekte verstärkt werden könnten (Abate et al. 2017). Zu einem ähnlichen Schluss kamen auch Coombes et al. in deren Übersicht und Metaanalyse (2010).

Was die lokale Therapie mit Morphin oder Morphin-6-Glucuronid betrifft, so könnten Opiate insofern eine Alternative zu Lokalanästhetika darstellen, als dass sie *in vivo* vermutlich keine oder allenfalls nur eine geringe Schädigung verursachen. Davon abgesehen dürften etwaige geringe Alterationen reversibel sein. Der Versuch, den mutmaßlichen toxischen Einfluss der Opiate durch Dexamethason oder andere Corticosteroide aufheben zu wollen, scheint vor dem Hintergrund der Datenlage nicht gerechtfertigt, wenngleich hier *in vitro* ein gewisser positiver Effekt beobachtet werden konnte. Die Kombination aus Morphin und Glucocorticoid scheint im Übrigen schon deshalb nicht empfehlenswert, als dass durch die Entzündungshemmung die analgetische Wirkung von Morphin (oder anderen Opiaten) vermindert werden kann. Bereits im Jahr 1990 wies die Arbeitsgruppe um Stein darauf hin, dass Morphin nur dann wirksam ist, wenn ein entzündliches Gewebe vorliegt (Stein et al. 1990).

In der Folge haben sich weitere Hinweise dafür ergeben, dass Opiate vor allem dann ihre analgetische Wirkung entfalten, wenn es sich um ein inflammatorisches Milieu handelt –

etwa eine Arthritis oder eine sterile postoperative inflammatorische Reaktion nach arthroskopischem Eingriff (Marchal et al. 2003; Nielsen et al. 2015). Dies könnte im Übrigen auch mit ein Grund dafür sein, dass in den bisher vorliegenden Studien sehr unterschiedliche Ergebnisse resultierten, die ein breites Spektrum umfassten: von keine (zusätzliche) Wirkung über klinisch nicht relevante Wirkung bis hin zu gutem analgetischem Effekt reichten (Kalso et al. 1997; Meiser und Laubenthal 1997; Murphy et al. 2000; Marchal et al. 2003; Axelsson und Gupta 2009; Danieli et al. 2012; Zeng et al. 2013; Nielsen et al. 2015).

Zusammenfassend lässt sich vorläufig feststellen, dass Morphin eine sichere Alternative zu Lokalanästhetika wie Bupivacain oder Ropivacain darstellen könnte. Sinnvoll wäre möglicherweise auch eine Kombination der beiden Wirkstoffgruppen, da die Wirkung von Morphin verzögert einsetzt und länger anhält als die von Bupivacain. Bedingt ist dies durch die geringere Lipidlöslichkeit, wodurch Morphin langsamer in die Peripherie abflutet als Lokalanästhetika. Es wird von einer Wirkdauer von bis zu zwei Tagen berichtet, wobei dies zum Teil auch durch die Glucuronidation von Morphin zu Morphin-2-Glucuronid bedingt ist, das eine längere Halbwertszeit aufweist (Allen et al. 1993; Danieli et al. 2012; Hosseini et al. 2012; Yaksh und Wallace 2018).

Zu prüfen wäre, inwiefern Morphin oder Morphin-6-Glucuronid bei der praktischen Anwendung im Falle einer Tendinopathie eine Analgesie bewirken oder zu dieser beitragen, wenn es sich um eine Kombinationstherapie mit anderen lokal wirksamen Substanzen handelt. Dieser Aspekt wird ja nach wie vor noch kontrovers diskutiert, wobei sich die meisten Untersuchungen hierbei um die postoperative Analgesie nach arthroskopischen Eingriffen handelt (meist Kniegelenk). Zur lokalen Behandlung von Tendinopathien mit Opiaten liegen bislang noch keine Untersuchungen vor. Viele der bislang bekannten Studien sind im Übrigen kaum miteinander vergleichbar, weil methodisch große Unterschiede vorliegen. Dies beginnt bei der Wahl der allgemeinen Analgesie bzw. Narkoseform und endet bei sehr unterschiedlichen Dosierungen oder Konzentrationen von Wirkstoffen. Ferner scheint das Geschlecht eine Rolle zu spielen, wobei Frauen eine höhere Schmerzintensität aufweisen als

Männer (Gupta 2014). Gupta rät in diesem Zusammenhang sogar dazu, bei weiblichen Patienten den menstrualen Zyklus zu berücksichtigen, da in der lutealen Phase der Schmerz stärker empfunden werden soll.

Ein Problem stellt auch die Schmerzmessung selbst dar, wobei bei Patienten, bei denen bereits initial bzw. unmittelbar postoperativ bereits nur eher geringe Schmerzen vorliegen, nicht mit einer relevanten weiteren Reduktion zu rechnen ist. Eine VAS-Reduktion von 1,5 auf 1 stellt zwar eine Verminderung um 50 % dar, ist jedoch klinisch ohne große Bedeutung (Gupta 2014; Raeder und Spreng 2017). Es erscheint folglich zweckmäßig, die Patienten in zumindest zwei Gruppen aufzuteilen: solche mit geringen und solche mit eher starken Schmerzen. Vielfach wurde auch nur auf den Ruheschmerz fokussiert, wobei möglicherweise der Belastungsschmerz aussagekräftiger wäre. Dies schon deshalb, weil er in der Regel auch ausgeprägter ist.

Davon abgesehen, dass die Effektivität von lokal appliziertem Morphin noch zu überprüfen ist, insbesondere im Hinblick auf Tendinopathien, kann abschließend zumindest festgehalten werden, dass nicht mit einer negativen Wirkung gegenüber Sehnen oder Tenozyten gerechnet werden muss. Dies stellt vor dem Hintergrund der Beobachtungen, wie sie mit Lokalanästhetika und Corticosteroiden gemacht wurden bereits einen großen Vorteil dar.

4 Literaturverzeichnis

1. Abate, M; Salini, V; Schiavone, C; Andia, I (2017): Clinical benefits and drawbacks of local corticosteroids injections in tendinopathies. *Expert Opin Drug Saf* 16: S. 341-349.
2. Ahrens, J; Leffler, A (2014): Update zu Pharmakologie und Wirkung von Lokalanästhetika. *Anaesthesist* 63: S. 376-386.
3. Allen, G C.; St Amand, M A.; Lui, A C.; Johnson, D H.; Lindsay, M P. (1993): Postarthroscopy analgesia with intraarticular bupivacaine/morphine. A randomized clinical trial. *Anesthesiology* 79: S. 475-480.
4. Al-Nasser, B (2002): Local toxicity of local anaesthetics--do experimental data apply to clinical manifestations? *Anaesthesia* 57: S. 1236-1237.
5. Anderson, S Lance; Buchko, J Z.; Taillon, M R.; Ernst, M A. (2010): Chondrolysis of the glenohumeral joint after infusion of bupivacaine through an intra-articular pain pump catheter: a report of 18 cases. *Arthroscopy* 26: S. 451-461.
6. Angele, P; Zellner, J (2016): Einfluss lokaler Anästhetika auf den hyalinen Gelenkknorpel. *Arthroskopie* 29: S. 82-88.
7. Anz, A; Smith, M J.; Stoker, A; Linville, C; Markway, H; Branson, K; Cook, J L. (2009): The effect of bupivacaine and morphine in a coculture model of diarthrodial joints. *Arthroscopy* 25: S. 225-231.
8. Axelsson, K; Gupta, A (2009): Local anaesthetic adjuvants: neuraxial versus peripheral nerve block. *Curr Opin Anaesthesiol* 22: S. 649-654.
9. Bailie, D S.; Ellenbecker, T S. (2009): Severe chondrolysis after shoulder arthroscopy: a case series. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery* 18: S. 742-747.
10. Bhatia, M; Singh, B; Nicolaou, N; Ravikumar, K J. (2009): Correlation between rotator cuff tears and repeated subacromial steroid injections: a case-controlled study. *Ann R Coll Surg Engl* 91: S. 414-416.
11. Blanco, I; Krähenbühl, S; Schlienger, R G. (2005): Corticosteroid-associated tendinopathies: an analysis of the published literature and spontaneous pharmacovigilance data. *Drug Saf* 28: S. 633-643.
12. Bolt, D M.; Ishihara, A; Weisbrode, S E.; Bertone, A L. (2008): Effects of triamcinolone acetonide, sodium hyaluronate, amikacin sulfate, and mepivacaine hydrochloride, alone and in combination, on morphology and matrix composition of lipopolysaccharide-challenged and unchallenged equine articular cartilage explants. *Am J Vet Res* 69: S. 861-867.
13. Braun, H J.; Wilcox-Fogel, N; Kim, H Joo; Pouliot, M A.; Harris, A H. S.; Dragoo, J L. (2012): The effect of local anesthetic and corticosteroid combinations on chondrocyte viability. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy* 20: S. 1689-1695.

14. Breu, A; Rosenmeier, K; Kujat, R; Angele, P; Zink, W (2013): The cytotoxicity of bupivacaine, ropivacaine, and mepivacaine on human chondrocytes and cartilage. *Anesth Analg* 117: S. 514-522.
15. Breu, A; Scheidhammer, I; Kujat, R; Graf, B; Angele, P (2015): Local anesthetic cytotoxicity on human mesenchymal stem cells during chondrogenic differentiation. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy* 23: S. 937-945.
16. Buchko, J Z.; Gurney-Dunlop, T; Shin, J J. (2015): Knee chondrolysis by infusion of bupivacaine with epinephrine through an intra-articular pain pump catheter after arthroscopic ACL reconstruction. *The American Journal of Sports Medicine* 43: S. 337-344.
17. Busse, P; Vater, C; Stiehler, M; Nowotny, J; Kasten, P; Bretschneider, H; Goodman, S B.; Gelinsky, M; Zwingenberger, S (2019): Cytotoxicity of drugs injected into joints in orthopaedics. *Bone & Joint Research* 8: S. 41-48.
18. Chan, K-M; Fu, S-C (2009): Anti-inflammatory management for tendon injuries - friends or foes? *Sports Med Arthrosc Rehabil Ther Technol* 1: S. 23.
19. Chu, C R.; Coyle, C H.; Chu, C T.; Szczodry, M; Seshadri, V; Karpie, J C.; Cieslak, K M.; Pringle, E K. (2010): In vivo effects of single intra-articular injection of 0.5% bupivacaine on articular cartilage. *Journal of Bone and Joint Surgery* 92: S. 599-608.
20. Chu, C R.; Izzo, N J.; Coyle, C H.; Papas, N E.; Logar, A (2008): The in vitro effects of bupivacaine on articular chondrocytes. *The Journal of Bone and Joint Surgery. British volume* 90: S. 814-820.
21. Cogan, C J.; Knesek, M; Tjong, V K.; Nair, R; Kahlenberg, C; Dunne, K F.; Kendall, M C.; Terry, M A. (2016): Assessment of Intraoperative Intra-articular Morphine and Clonidine Injection in the Acute Postoperative Period After Hip Arthroscopy. *Orthop J Sports Med* 4: 2325967116631335.
22. Convery, P N.; Milligan, K R.; Quinn, P; Sjövall, J; Gustafsson, U (2001): Efficacy and uptake of ropivacaine and bupivacaine after single intra-articular injection in the knee joint. *British Journal of Anaesthesia* 87: S. 570-576.
23. Coombes, B K.; Bisset, L; Brooks, P; Khan, A; Vicenzino, B (2013): Effect of corticosteroid injection, physiotherapy, or both on clinical outcomes in patients with unilateral lateral epicondylalgia: a randomized controlled trial. *JAMA* 309: S. 461-469.
24. Coombes, B K.; Bisset, L; Vicenzino, B (2010): Efficacy and safety of corticosteroid injections and other injections for management of tendinopathy: a systematic review of randomised controlled trials. *The Lancet* 376: S. 1751-1767.
25. Danieli, M Vinicius; Cavazzani Neto, A; Herrera, P Adilson (2012): Intra-articular bupivacaine or ropivacaine and morphine after ACL reconstruction. *Acta Ortop Bras* 20: S. 258-261.
26. Dean, B John Floyd; Carr, A Jonathan (2016a): The Effects of Glucocorticoid on Tendon and Tendon Derived Cells. In: Ackermann, PW. und Hart, DA. (Hg.): *Metabolic Influences on Risk for Tendon Disorders*. Cham, Switzerland: Springer International Publishing: S. 239-246.

27. Dean, B John Floyd; Carr, A Jonathan (2016b): The Effects of Glucocorticoid on Tendon and Tendon Derived Cells. *Adv Exp Med Biol* 920: S. 239-246.
28. Dean, B John Floyd; Lostis, E; Oakley, T; Rombach, I; Morrey, M E.; Carr, A J. (2014): The risks and benefits of glucocorticoid treatment for tendinopathy: a systematic review of the effects of local glucocorticoid on tendon. *Semin Arthritis Rheum* 43: S. 570-576.
29. Dhawan, A; Mather, R C.; Karas, V; Ellman, M B.; Young, B B.; Bach, B R.; Cole, B J. (2014): An epidemiologic analysis of clinical practice guidelines for non-arthroplasty treatment of osteoarthritis of the knee. *Arthroscopy* 30: S. 65-71.
30. Dragoo, J L.; Braun, H J.; Kim, H Joo; Phan, H D.; Golish, S Raymond (2012a): The in vitro chondrotoxicity of single-dose local anesthetics. *The American Journal of Sports Medicine* 40: S. 794-799.
31. Dragoo, J L.; Danial, C M.; Braun, H J.; Pouliot, M A.; Kim, H Joo (2012b): The chondrotoxicity of single-dose corticosteroids. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy* 20: S. 1809-1814.
32. Dragoo, J L.; Korotkova, T; Kanwar, R; Wood, B (2008): The effect of local anesthetics administered via pain pump on chondrocyte viability. *The American Journal of Sports Medicine* 36: S. 1484-1488.
33. Dragoo, J L.; Korotkova, T; Kim, H Joo; Jagadish, A (2010): Chondrotoxicity of low pH, epinephrine, and preservatives found in local anesthetics containing epinephrine. *The American Journal of Sports Medicine* 38: S. 1154-1159.
34. Faccenda, K A.; Finucane, B T. (2001): Complications of regional anaesthesia Incidence and prevention. *Drug Saf* 24: S. 413-442.
35. Farkas, B; Kvell, K; Czömpöly, T; Illés, T; Bárdos, T (2010): Increased chondrocyte death after steroid and local anesthetic combination. *Clin Orthop Relat Res* 468: S. 3112-3120.
36. Fubini, S L.; Todhunter, R J.; Burton-Wurster, N; Vernier-Singer, M; Macleod, J N. (2001): Corticosteroids alter the differentiated phenotype of articular chondrocytes. *Journal of Orthopaedic Research* 19: S. 688-695.
37. Fuzier, R; Lapeyre-Mestre, M (2010): Safety of amide local anesthetics: new trends. *Expert Opin Drug Saf* 9: S. 759-769.
38. Goerig, M; Bacon, D; van Zundert, A (2012): Carl Koller, cocaine, and local anesthesia: some less known and forgotten facts. *Regional Anesthesia and Pain Medicine* 37: S. 318-324.
39. Gomoll, A H.; Yanke, A B.; Kang, R W.; Chubinskaya, S; Williams, J M.; Bach, B R.; Cole, B J. (2009): Long-term effects of bupivacaine on cartilage in a rabbit shoulder model. *The American Journal of Sports Medicine* 37: S. 72-77.
40. Grishko, V; Xu, M; Wilson, G; Pearsall, A W. (2010): Apoptosis and mitochondrial dysfunction in human chondrocytes following exposure to lidocaine, bupivacaine, and ropivacaine. *J Bone Joint Surg Am* 92: S. 609-618.

41. Gulihar, A; Robati, S; Twaij, H; Salih, A; Taylor, G J. S. (2015): Articular cartilage and local anaesthetic: A systematic review of the current literature. *J Orthop* 12: S200-10.
42. Gupta, A (2014): Intraarticular Analgesia. In: Benzon, HT., Rathmell, JP., Wu, CL., Turk, DC., Argoff, CE. und Hurley, RW. (Hg.): *Practical management of pain* (5. Aufl.). Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders: S. 768-783.
43. Haasters, F; Polzer, H; Prall, W Christian; Saller, M Michael; Kohler, J; Grote, S; Mutschler, W; Docheva, D; Schieker, M (2011): Bupivacaine, ropivacaine, and morphine: comparison of toxicity on human hamstring-derived stem/progenitor cells. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 19: S. 2138-2144.
44. Hansen, B P.; Beck, C L.; Beck, E P.; Townsley, R W. (2007): Postarthroscopic glenohumeral chondrolysis. *The American Journal of Sports Medicine* 35: S. 1628-1634.
45. Harada, Y; Kokubu, T; Mifune, Y; Inui, A; Sakata, R; Muto, T; Takase, F; Kurosaka, M (2014): Dose- and time-dependent effects of triamcinolone acetonide on human rotator cuff-derived cells. *Bone & Joint Research* 3: S. 328-334.
46. Hosseini, H; Abrisham, S Mohammad Jalil; Jomeh, H; Kermani-Alghoraishi, M; Ghahramani, R; Mozayan, M Reza (2012): The comparison of intraarticular morphine-bupivacaine and tramadol-bupivacaine in postoperative analgesia after arthroscopic anterior cruciate ligament reconstruction. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy* 20: S. 1839-1844.
47. Ickert, I; Herten, M; Vogl, M; Ziskoven, C; Zilkens, C; Krauspe, R; Kircher, J (2015): Opioids as an alternative to amide-type local anaesthetics for intra-articular application. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy* 23: S. 2674-2681.
48. Jacobs, T F.; Vansintjan, P S.; Roels, N; Herregods, S S.; Verbruggen, G; Herregods, L L.; Almqvist, K F. (2011): The effect of Lidocaine on the viability of cultivated mature human cartilage cells: an in vitro study. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy* 19: S. 1206-1213.
49. Jaureguito, J W.; Wilcox, J F.; Thisted, R A.; Phillips, C; Cunningham, B; Reider, B (2002): The effects of morphine on human articular cartilage of the knee: an in vitro study. *Arthroscopy* 18: S. 631-636.
50. Jüni, P; Hari, R; Rutjes, A W. S.; Fischer, R; Sillelta, M G.; Reichenbach, S; da Costa, B R. (2015): Intra-articular corticosteroid for knee osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev*: CD005328.
51. Kalso, E; Tramèr, M R.; Carroll, D; McQuay, H J.; Moore, A R. (1997): Pain relief from intra-articular morphine after knee surgery: a qualitative systematic review. *Pain* 71: S. 127-134.
52. Kim, R Jeong; Hah, Y-S; Kang, J-R; Park, H Bin (2015): Antioxidant's cytoprotective effects on rotator cuff tenofibroblasts exposed to aminoamide local anesthetics. *J Orthop Res* 33: S. 1001-1007.

53. Kim, Y Hoon; Park, G Young; Rabinovitch, N; Tarafder, S; Lee, C H. (2020): Effect of local anesthetics on viability and differentiation of various adult stem/progenitor cells. *Stem Cell Res Ther* 11: S. 385.
54. Kirchgessner, T; Larbi, A; Omoumi, P; Malghem, J; Zamali, N; Manelfe, J; Lecouvet, F; Vande Berg, B; Djebbar, S; Dallaudière, B (2014): Drug-induced tendinopathy: from physiology to clinical applications. *Joint Bone Spine* 81: S. 485-492.
55. Knobloch, K (2016): Drug-Induced Tendon Disorders. In: Ackermann, PW. und Hart, DA. (Hg.): *Metabolic Influences on Risk for Tendon Disorders*. Cham, Switzerland: Springer International Publishing: S. 229-238.
56. Koller, C (1892): The Sub-conjunctival application of Cocaine in Eye Operations. *Trans Am Ophthalmol Soc* 6: S. 421-424.
57. Kreuz, P Cornelius; Steinwachs, M; Angele, P (2017): Single-dose local anesthetics exhibit a type-, dose-, and time-dependent chondrotoxic effect on chondrocytes and cartilage: a systematic review of the current literature. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy* 26: S. 819-830.
58. Larsson, E; Erlandsson Harris, H; Larsson, A; Månsson, B; Saxne, T; Klareskog, L (2004): Corticosteroid treatment of experimental arthritis retards cartilage destruction as determined by histology and serum COMP. *Rheumatology (Oxford)* 43: S. 428-434.
59. Leffler, A; Frank, G; Kistner, K; Niedermirtl, F; Koppert, W; Reeh, P W.; Nau, C (2012): Local anesthetic-like inhibition of voltage-gated Na(+) channels by the partial μ -opioid receptor agonist buprenorphine. *Anesthesiology* 116: S. 1335-1346.
60. Leffler, A; Schulz-Stübner, S (2019): Lokalanästhetika. In: Rossaint, R, Werner, C und Zwißler, B (Hg.): *Beurteilung des Patienten, Pharmakologie, Der Arbeitsplatz, Allgemeine Anästhesie (4. Aufl.)*. Berlin, Heidelberg: Springer: S. 403-416.
61. Lehner, C; Gehwolf, R; Hirzinger, C; Stephan, D; Augat, P; Tauber, M; Resch, H; Bauer, H-C; Bauer, H; Tempfer, H (2013): Bupivacaine induces short-term alterations and impairment in rat tendons. *The American Journal of Sports Medicine* 41: S. 1411-1418.
62. Levy, J C.; Virani, N A.; Frankle, M A.; Cuff, D; Pupello, D R.; Hamelin, J A. (2008): Young patients with shoulder chondrolysis following arthroscopic shoulder surgery treated with total shoulder arthroplasty. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery* 17: S. 380-388.
63. Lin, C-Y; Huang, S-C; Tzou, S-J; Yin, C-H; Chen, J-S; Chen, Y-S; Chang, S-T (2022): A Positive Correlation between Steroid Injections and Cuff Tendon Tears: A Cohort Study Using a Clinical Database. *International journal of environmental research and public health* 19.
64. Marchal, J M.; Delgado-Martinez, A D.; Poncela, M; Valenzuela, J; Dios Luna, J de (2003): Does the type of arthroscopic surgery modify the analgesic effect of intraarticular morphine and bupivacaine? A preliminary study. *The Clinical Journal of Pain* 19: S. 240-246.

65. Matsen, F A.; Papadonikolakis, A (2013): Published evidence demonstrating the causation of glenohumeral chondrolysis by postoperative infusion of local anesthetic via a pain pump. *Journal of Bone and Joint Surgery* 95: S. 1126-1134.
66. McAlindon, T E.; LaValley, M P.; Harvey, W F.; Price, L Lyn; Driban, J B.; Zhang, M; Ward, R J. (2017): Effect of Intra-articular Triamcinolone vs Saline on Knee Cartilage Volume and Pain in Patients With Knee Osteoarthritis: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 317: S. 1967-1975.
67. McNickle, A G.; L'Heureux, D R.; Provencher, M T.; Romeo, A A.; Cole, B J. (2009): Postsurgical glenohumeral arthritis in young adults. *The American Journal of Sports Medicine* 37: S. 1784-1791.
68. Meiser, A; Laubenthal, H (1997): Klinische Studien zur peripheren Wirksamkeit von Opioiden nach Kniegelenk-Operationen. Ein Literaturüberblick. *Anaesthesist* 46: S. 867-879.
69. Mikolyzk, D K.; Wei, A S.; Tonino, P; Marra, G; Williams, D A.; Himes, R D.; Wezeman, F H.; Callaci, J J. (2009): Effect of corticosteroids on the biomechanical strength of rat rotator cuff tendon. *Journal of Bone and Joint Surgery* 91: S. 1172-1180.
70. Millar, N L.; Hueber, A J.; Reilly, J H.; Xu, Y; Fazzi, U G.; Murrell, G A. C.; McInnes, I B. (2010): Inflammation is present in early human tendinopathy. *The American Journal of Sports Medicine* 38: S. 2085-2091.
71. Mosca, M J.; Rashid, M S.; Snelling, S J.; Kirtley, S; Carr, A Jonathan; Dakin, S Georgina (2018): Trends in the theory that inflammation plays a causal role in tendinopathy: a systematic review and quantitative analysis of published reviews. *BMJ Open Sport Exerc Med* 4: e000332.
72. Murphy, D B.; McCartney, C J.; Chan, V W. (2000): Novel analgesic adjuncts for brachial plexus block: a systematic review. *Anesthesia & Analgesia* 90: S. 1122-1128.
73. Nielsen, B N.; Henneberg, S W.; Schmiegelow, K; Friis, S M.; Rømsing, J (2015): Peripherally applied opioids for postoperative pain: evidence of an analgesic effect? A systematic review and meta-analysis. *Acta Anaesthesiol Scand* 59: S. 830-845.
74. Nole, R; Munson, N M.L.; Fulkerson, J P. (1985): Bupivacaine and saline effects on articular cartilage. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery* 1: S. 123-127.
75. Noyes, F R.; Fleckenstein, C M.; Barber-Westin, S D. (2012): The development of postoperative knee chondrolysis after intra-articular pain pump infusion of an anesthetic medication: a series of twenty-one cases. *Journal of Bone and Joint Surgery* 94: S. 1448-1457.
76. Oeyen, A Lene; Kircher, J; Vogl, M; Ickert, I; Osada, N; Krauspe, R; Bittersohl, B; Herten, M (2022): Dexamethasone Does not Compensate for Local Anesthetic Cytotoxic Effects on Tenocytes: Morphine or Morphine Plus Dexamethasone May Be a Safe Alternative. *Arthroscopy, Sports Medicine, and Rehabilitation* 4: e459-e469.

77. Osborne, P B.; Chieng, B; Christie, M J. (2000): Morphine-6 beta-glucuronide has a higher efficacy than morphine as a mu-opioid receptor agonist in the rat locus coeruleus. *Br J Pharmacol* 131: S. 1422-1428.
78. Pelletier, J P.; DiBattista, J A.; Raynauld, J P.; Wilhelm, S; Martel-Pelletier, J (1995): The in vivo effects of intraarticular corticosteroid injections on cartilage lesions, stromelysin, interleukin-1, and oncogene protein synthesis in experimental osteoarthritis. *Lab Invest* 72: S. 578-586.
79. Piper, S L.; Kim, H T. (2008): Comparison of ropivacaine and bupivacaine toxicity in human articular chondrocytes. *Journal of Bone and Joint Surgery* 90: S. 986-991.
80. Piper, S L.; Kramer, J D.; Kim, H T.; Feeley, B T. (2011): Effects of local anesthetics on articular cartilage. *The American Journal of Sports Medicine* 39: S. 2245-2253.
81. Piper, S L.; Laron, D; Manzano, G; Pattnaik, T; Liu, X; Kim, H T.; Feeley, B T. (2012): A comparison of lidocaine, ropivacaine and dexamethasone toxicity on bovine tenocytes in culture. *The Journal of Bone and Joint Surgery. British volume* 94: S. 856-862.
82. Puzzitiello, R N.; Patel, B H.; Forlenza, E M.; Nwachukwu, B U.; Allen, A A.; Forsythe, B; Salzler, M J. (2020): Adverse Impact of Corticosteroids on Rotator Cuff Tendon Health and Repair: A Systematic Review of Basic Science Studies. *Arthroscopy, Sports Medicine, and Rehabilitation* 2: e161-e169.
83. Raeder, J; Spreng, U J. (2017): Intra-articular and Periarticular Infiltration of Local Anesthetics. In: Hadzic, A (Hg.): *Hadzic's textbook of regional anesthesia and acute pain management*. Second edition. New York: McGraw-Hill Education: S. 278-288.
84. Rao, A J.; Johnston, T R.; Harris, A H. S.; Smith, R Lane; Costouros, J G. (2014): Inhibition of chondrocyte and synovial cell death after exposure to commonly used anesthetics: chondrocyte apoptosis after anesthetics. *The American Journal of Sports Medicine* 42: S. 50-58.
85. Raynauld, J P. (1999): Clinical trials: impact of intraarticular steroid injections on the progression of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 7: S. 348-349.
86. Rees, J D.; Stride, M; Scott, A (2014): Tendons--time to revisit inflammation. *Br J Sports Med* 48: S. 1553-1557.
87. Rubio-Martínez, L M.; Rioja, E; Castro Martins, M; Wipawee, S; Clegg, P; Peffers, M J. (2017): Local anaesthetics or their combination with morphine and/or magnesium sulphate are toxic for equine chondrocytes and synoviocytes in vitro. *BMC Vet Res* 13: S. 318.
88. Russell, N; Schaible, H-G; Schmidt, R F. (1987): Opiates inhibit the discharges of fine afferent units from inflamed knee joint of the cat. *Neuroscience Letters* 76: S. 107-112.
89. Scheffel, P T.; Clinton, J; Lynch, J R.; Warme, W J.; Bertelsen, A L.; Matsen, F A. (2010): Glenohumeral chondrolysis: a systematic review of 100 cases from the English language literature. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery* 19: S. 944-949.
90. Scherb, M B.; Han, S-H; Courneya, J-P; Guyton, G P.; Schon, L C. (2009): Effect of bupivacaine on cultured tenocytes. *Orthopedics* 32: S. 26.

91. Sehgal, N; Smith, H S.; Manchikanti, L (2011): Peripherally acting opioids and clinical implications for pain control. *Pain Phys* 14: S. 249-258.
92. Serrato, J A.; Fleckenstein, C M.; Hasan, S S. (2011): Glenohumeral chondrolysis associated with use of an intra-articular pain pump delivering local anesthetics following manipulation under anesthesia: a report of four cases. *Journal of Bone and Joint Surgery* 93: e99(1-8).
93. Seshadri, V; Coyle, C H.; Chu, C R. (2009): Lidocaine potentiates the chondrotoxicity of methylprednisolone. *Arthroscopy* 25: S. 337-347.
94. Slabaugh, M A.; Friel, N A.; Cole, B J. (2010): Rapid chondrolysis of the knee after anterior cruciate ligament reconstruction: a case report. *Journal of Bone and Joint Surgery* 92: S. 186-189.
95. Stein, C; Comisel, K; Haimerl, E; Yassouridis, A; Lehrberger, K; Herz, A; Peter, K (1991): Analgesic effect of intraarticular morphine after arthroscopic knee surgery. *N Engl J Med* 325: S. 1123-1126.
96. Stein, C; Gramsch, C; Herz, A (1990): Intrinsic mechanisms of antinociception in inflammation: local opioid receptors and beta-endorphin. *J. Neurosci.* 10: S. 1292-1298.
97. Stein, C; Lang, L Julia (2009): Peripheral mechanisms of opioid analgesia. *Curr Opin Pharmacol* 9: S. 3-8.
98. Stein, C; Schäfer, M; Machelska, H (2003): Attacking pain at its source: new perspectives on opioids. *Nat Med* 9: S. 1003-1008.
99. Steverink, J G.; Piluso, S; Malda, J; Verlaan, J-J (2021): Comparison of in vitro and in vivo Toxicity of Bupivacaine in Musculoskeletal Applications. *Front Pain Res (Lausanne)* 2: S. 723883.
100. Syed, H M.; Green, L; Bianski, B; Jobe, C M.; Wongworawat, M D. (2011): Bupivacaine and triamcinolone may be toxic to human chondrocytes: a pilot study. *Clin Orthop Relat Res* 469: S. 2941-2947.
101. Wadlund, D L. (2017): Local Anesthetic Systemic Toxicity. *AORN J* 106: S. 367-377.
102. Werdehausen, R; Fazeli, S; Braun, S; Hermanns, H; Essmann, F; Hollmann, M W.; Bauer, I; Stevens, M F. (2009): Apoptosis induction by different local anaesthetics in a neuroblastoma cell line. *British Journal of Anaesthesia* 103: S. 711-718.
103. Wong, M Wan Nar; Tang, Y Nei; Fu, S Chuen; Lee, K Man; Chan, K Ming (2004): Triamcinolone suppresses human tenocyte cellular activity and collagen synthesis. *Clinical Orthopaedics & Related Research*: S. 277-281.
104. Yaksh, T; Wallace, M (2018): Opioids, Analgesia, and Pain Management. In: Brunton, LL., Knollmann, BC. und Hilal-Dandan, R (Hg.): *Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics* (13. Aufl.). Unter Mitarbeit von Laurence L. Brunton, Björn C. Knollmann und Randa Hilal-Dandan. 13th ed. New York, N.Y.: McGraw-Hill Education LLC: S. 355-386.

105. Yang, Y; Zeng, C; Wei, J; li, H; Yang, T; Deng, Z-H; Li, Y; Yang, T; Lei, G (2017): Single-dose intra-articular bupivacaine plus morphine versus bupivacaine alone after arthroscopic knee surgery: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 25: S. 966-979.
106. Yari, M; Saeb, M; Golfam, P; Makhloogh, Z (2013): Analgesic efficacy of intra-articular morphine after arthroscopic knee surgery in sport injury patients. *J Inj Violence Res* 5: S. 84-88.
107. Zeng, C; Gao, S; Cheng, L; Luo, W; Li, Y; Tu, M; Tian, J; Xu, M; Zhang, F; Jiang, W; Wei, L; Lei, G (2013): Single-dose intra-articular morphine after arthroscopic knee surgery: a meta-analysis of randomized placebo-controlled studies. *Arthroscopy* 29: 1450-8.e2.
108. Zhang, A Z.; Ficklscherer, A; Gülecyüz, M F.; Paulus, A C.; Niethammer, T R.; Jansson, V; Müller, P E. (2017): Cell Toxicity in Fibroblasts, Tenocytes, and Human Mesenchymal Stem Cells-A Comparison of Necrosis and Apoptosis-Inducing Ability in Ropivacaine, Bupivacaine, and Triamcinolone. *Arthroscopy* 33: S. 840-848.
109. Zhang, S; Ju, W; Chen, X; Zhao, Y; Feng, L; Yin, Z; Chen, X (2022): Hierarchical ultra-structure: An overview of what is known about tendons and future perspective for tendon engineering. *Bioact Mater* 8: S. 124-139.
110. Zink, W; Graf, B M. (2003): Toxikologie der Lokalanästhetika. *Pathomechanismen-Klinik-Therapie. Anaesthesist* 52: S. 1102-1123.
111. Zink, W; Sinner, B; Zausig, Y; Graf, B M. (2007): Myotoxizität von Lokalanästhetika : Experimenteller Mythos oder klinische Wahrheit? *Anaesthesist* 56: S. 118-127.