

Stammzellentherapie von Sehnenverletzungen – klinische Ergebnisse von 98 Fällen

Janina Burk^{1,2} und Walter Brehm^{1,2}

Chirurgische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät¹ und Translationszentrum für Regenerative Medizin², Universität Leipzig

Zusammenfassung

Sehnenverletzungen zählen zu den häufigsten orthopädischen Verletzungen des Sportpferdes. Bisherigen Studien zufolge hat die intraläsionale Applikation von mesenchymalen Stammzellen (MSCs) einen positiven Einfluss auf die Sehnenheilung. So können durch Behandlung von Sehnenverletzungen mit MSCs die nach konventioneller Therapie hohen Rezidivraten deutlich gesenkt werden. Ziel dieser Studie war die Bewertung von Erfolg und Sicherheit der MSC-Therapie bei 98 Pferden, die an Sehnen- bzw. Bandverletzungen litten (zumeist an Fesselträger (FT) oder Oberflächlicher Beugesehne (OBS)). Außerdem wurden mögliche Einflüsse des Erkrankungsstadiums, der Nutzungsdisziplin und des Alters der Patienten sowie der betroffenen Sehnenstruktur (FT vs. OBS) auf die Erfolgchancen der MSC-Therapie analysiert. Von 58 Tieren lagen hierfür auch Langzeitergebnisse über einen Beobachtungszeitraum von mindestens 12 Monaten nach der MSC-Applikation vor. Bei diesen Pferden war die Behandlung in 84,5% der Fälle als erfolgreich einzustufen. Dabei zeigten Pferde mit akuten oder chronischen Erkrankungen bessere Ergebnisse (86,2% bzw. 91,7%) als solche, die mit rezidivierenden Erkrankungen vorgestellt worden waren (50,0%) und 6- bis 12-jährige Tiere bessere Ergebnisse (88,9%) als ältere (75,0%). Reit- und Sportpferde erlitten seltener Rezidive (10,0%) als Galopp- (27,3%) und Trabrennpferde (66,6%). FT und OBS konnten gleichermaßen erfolgreich behandelt werden, allerdings scheint innerhalb des FTs die Lokalisation der Verletzung von Bedeutung für den Heilungserfolg zu sein. Diese Fallstudie bestätigt die bislang vorliegenden positiven Ergebnisse zur regenerativen Sehnen-therapie mit MSCs. Darüber hinaus zeigt sich, dass MSCs bei Verletzungen des FTs wie auch der OBS gleichermaßen erfolgreich eingesetzt werden können.

Schlüsselwörter: Mesenchymale Stammzellen, Knochenmark, Tendinitis, Fesselträger, M. interosseus, Oberflächliche Beugesehne, Langzeitergebnisse, Pferd

Stem cell therapy of tendon injuries – clinical outcome in 98 cases

Tendon injuries are among the most common orthopedic injuries in competition and race horses. It has already been reported that the intralesional injection of mesenchymal stem cells (MSCs) results in a better tendon healing and reduces re-injury rates compared to conventional therapies. The aim of this study was to evaluate success and safety of MSC-therapy in horses suffering from tendon and ligament injuries and to identify factors that influence the success of MSC-therapies. 98 horses had presented with tendon or ligament injuries, of which approximately two-thirds were suspensory ligament (SL) lesions and one-third superficial digital flexor tendon (SDFT) lesions. All horses had been treated with an intralesional injection of autologous bone marrow MSCs and follow-up information was obtained by the responsible practitioner. MSC-therapy associated complications and the MSC-treatment success rate were assessed based on the data obtained for all 98 horses. Treatment success was defined as return to intended use and/ or return to full training without re-injury. Follow-up information over a period longer than 12 months could be obtained for 58 horses. For these 58 horses, data was additionally analyzed with regard to the questions whether the disease stage at which the MSCs had been applied, the discipline in which horses used to perform, the age of the horses, or the injury localization (SL vs. SDFT) influence the treatment success rate. In 6 out of 98 cases treatment-associated complications such as transient swellings had been observed; however, this had no effect on the clinical outcomes. The success rate after more than 12 months after treatment (n=58) was 84.5%. Patients with acute or chronic disease showed overall better results (82.2% and 91.7% respectively) than horses that had presented with recurrent disease (50.0%). Generally, six to twelve year old horses showed a higher success rate (88.9%) compared to older horses (75.0%). Competition horses reinjured less frequently (10.0%) than flat (27.3%) and trot race horses (66.6%). The success rate did not vary between horses with SL or SDFT injuries. However, the localization of the lesion within the SL seems to play a role concerning the treatment success. The results of this case study confirm the positive results reported in previous studies on regenerative tendon therapy with MSCs. Furthermore it shows that MSC-therapy is not only successful in the treatment of SDFT lesions but also leads to promising results in the treatment of SL injuries.

Keywords: mesenchymal stem cells, bone marrow, tendinitis, suspensory ligament, superficial digital flexor tendon, long term results, horse

Einleitung

Verletzungen der Sehnen und Bänder, insbesondere der oberflächlichen Beugesehne (OBS) und des Fesselträgers (FT), zählen mit einem Anteil von 46% zu den wichtigsten muskuloskeletalen Verletzungen des Sportpferdes (Kasashima et al., 2004, Smith 2008a). Für Tendinitiden der OBS wurden in verschiedenen Studien Inzidenzen von 11-43% beschrieben (Dowling et al. 2000). Bezüglich der Häufigkeit von FT-Verletzungen existiert bislang noch wenig Literatur. Dennoch stellen

auch diese einen bedeutenden Anteil der Verletzungen an Sehnen und Bändern dar (Kasashima et al. 2004, Ely et al. 2009).

Die erfolgreiche Behandlung von Sehnenverletzungen gestaltet sich oft schwierig, da sich nach konservativer Therapie im verletzten Areal fibröses Narbengewebe bildet. Dieses weist eine gegenüber dem originären Sehnen- gewebe reduzierte Elastizität auf (Richardson et al. 2007), was zu hohen Rezidiv- raten von bis zu 80% führt (Dowling et al. 2000). Es existie-

ren vielfältige beschriebene chirurgische oder medikamentelle Therapieansätze, deren Erfolg allerdings in den meisten Fällen nicht eindeutig belegt werden konnte (Dowling et al. 2000, Dyson 2004).

Dagegen stellt die Behandlung mit mesenchymalen Stammzellen (MSCs) eine vielversprechende therapeutische Möglichkeit dar. In den letzten Jahren konnte durch histologische und ultrasonografische Untersuchungen gezeigt werden, dass nach MSC-Applikation in Sehnenläsionen die Struktur des dort neu gebildeten Kollagenfaserarrangements signifikant verbessert ist, im Vergleich zu nicht behandelten Läsionen (Smith et al. 2003, Mountford et al. 2006, Smith 2008a Schnabel et al. 2009). Dies spricht dafür, dass intraläsional injizierte MSCs die Heilung dahingehend beeinflussen, dass anstelle der narbigen Reparatur eine tatsächliche Regeneration des Sehngewebes stattfindet. In der Tat zeigen erste klinische Ergebnisse, dass nach MSC-Therapie von Sehnenläsionen die Rezidivraten deutlich geringer sind als nach konservativer Behandlung (Pacini et al. 2007, Smith 2008a). Weitere klinische Studien müssen diese vielversprechenden Ergebnisse verifizieren. Überdies beziehen sich fast alle bisherigen Studien nur auf die MSC-Behandlung der OBS. Über den Behandlungserfolg bei Verletzungen anderer wichtiger Strukturen, wie des FTs, ist uns nur ein Fallbericht (Mountford et al. 2006) bekannt. In dieser Fallstudie wurden daher die Ergebnisse nach MSC-Behandlung unterschiedlicher tendinöser Strukturen, vornehmlich des FTs und der OBS, von insgesamt 98 Pferden zusammengestellt.

Material und Methoden

Das Patientengut bestand aus 98 Pferden verschiedenen Geschlechts, Rasse, Nutzung und Alters, wobei 48,0% der Pferde zwischen 7 und 12 Jahren alt waren und 70,5% als Reit- bzw. Sportpferde, meist im Spring- oder Dressursport, genutzt wurden (Tab. 1).

Die Patienten waren in einem Zeitraum von 2 Jahren aufgrund von Lahmheit in den mitwirkenden Kliniken vorgestellt und dort klinisch und ultrasonografisch untersucht worden. Weiterführende Untersuchungen wie diagnostische Anästhe-

sien wurden nach Ermessen der behandelnden Tierärzte durchgeführt, bis eine sichere Diagnosestellung möglich war. Bei allen Pferden wurde letztendlich als Lahmheitsursache eine Sehnen- bzw. Bänderkrankung festgestellt. Bestand die Lahmheit vorberichtlich seit höchstens 6 Wochen, wurde die Erkrankung als akut eingestuft, bei länger bestehenden Lahmheiten als chronisch. Wurden die Tiere mit einem Rezidiv einer früher behandelten Verletzung vorgestellt, wurde die Erkrankung als rezidivierend eingestuft. Nach Diagnosestellung und Einverständniserklärung der Besitzer wurden alle Pferde mit autologen MSCs behandelt.

Zur Gewinnung autologer MSCs wurde Knochenmark unter Sedation und Lokalanästhesie durch Punktion des Sternums nach beschriebenen Methoden (Smith 2008b) entnommen. Im Zellkulturlabor wurde aus dem Knochenmark mittels Ficoll®-Dichtegradientenzentrifugation die mononukleäre Zellfraktion isoliert, in Kulturflaschen ausgesät und die plastikhärenten MSCs nach bereits etablierten Standardprotokollen (Smith et al. 2003) expandiert, bis - in den meisten Fällen nach drei bis fünf Wochen - eine Zellzahl von mindestens 10 Millionen erreicht war. Die MSCs wurden in 3,5 ml autologem Knochenmarküberstand suspendiert und an den behandelnden Tierarzt zurück gesandt.

Die MSC-Suspension wurde dem Patienten vor Ort unter Sedation und Leitungsanästhesie sowie ultrasonografischer Kontrolle direkt intraläsional injiziert, wie beschrieben bei Smith (2008b). Nach Ermessen des jeweiligen behandelnden Tierarztes und basierend auf den Ergebnissen von klinischen und ultrasonografischen Nachuntersuchungen wurden die Pferde einem kontrollierten, eingeschränkten Bewegungsprogramm in Anlehnung an Dyson (2004) unterstellt. Die MSC-Behandlung fand in allen Fällen nur einmalig statt.

Anschließend wurden Informationen über den Verbleib der Pferde beziehungsweise ihren Wiedereintritt in den Sport durch eine Befragung der behandelnden Tierärzte eingeholt. Bei Pferden, die wieder in ihrer früheren sportlichen Verwendung, inklusive Wettkampfeinsätzen, waren („Sport“) und solchen, die wieder regulär trainiert wurden, ohne dass die Lahmheit wieder aufgetreten war („Training“), wurde das Ergebnis als erfolgreich bewertet. Waren die Tiere noch in der

Tab. 1 Verteilung von Geschlecht, Rasse, Nutzungsrichtung, Alter, Erkrankungsstadium und Lokalisation der Verletzung im Patientengut (n=98)

Geschlecht	Stuten	Hengste	Wallache	unbekannt
Anzahl	27	23	44	4
Rasse	Warmblut	Vollblut	Traber	andere *
Anzahl	60	19	8	11
Nutzung	Reit- und Sportpferd **	Galopprennen	Trabrennen	andere ***
Anzahl	67	18	9	4
Alter	3-6 Jahre	7-12 Jahre	13-16 Jahre	unbekannt
Anzahl	24	47	13	14
Erkrankungsstadium	akut (<6 Wochen)	chronisch (>6 Wochen)	rezidivierend	unbekannt
Anzahl	54	21	10	13
Lokalisation der Verletzung	FT	OBS	andere ****	
Anzahl	57	36	5	

*Quarterhorse, Islandpony, Araber, Mix, unbekannt **Dressur, Springen, Vielseitigkeit, Freizeit, Western, Distanz ***Fahrsport, unbekannt ****Tiefe Beugesehne (TBS), Unterstützungsband der TBS, Kollateralband des Fesselgelenks

Rehabilitationsphase, wurde das Ergebnis mit „rekoneszent“ bezeichnet. Ergebnisse der Pferde, bei denen im Beobachtungszeitraum ein Rezidiv der behandelten Sehnenverletzung („Rezidiv“) oder eine Sehnenverletzung kontralateral („Rezidiv kontralateral“) aufgetreten war sowie der Pferde, die aus dem Sport zurückgezogen worden waren („Rückzug“), wurden als nicht erfolgreich zusammengefasst.

Die Patientendaten aller 98 Tiere wurden ausgewertet hinsichtlich der möglichen Auswirkung der Nutzung des Pferdes auf die Lokalisation der Sehnenkrankung (FT vs. OBS) sowie der Ergebnisse und eventueller Komplikationen der MSC-Behandlung.

Für 58 Pferde lagen Langzeitergebnisse über einen Zeitraum von mindestens 12 Monaten nach der MSC-Behandlung vor. Die klinischen Ergebnisse dieser 58 Pferde wurden noch einmal separat dargestellt und mögliche Auswirkungen des Stadiums der Erkrankung vor der Behandlung (akut/ chronisch/ rezidivierend), der Nutzung und des Alters der Tiere sowie der Lokalisation der Verletzung auf das klinische Ergebnis der MSC-Behandlung analysiert.

Die statistische Auswertung wurde für alle nominalen Variablen mittels Chi-Quadrat-Test und Fisher’s Exact Test durchgeführt, metrische Variablen wurden außerdem im Student’s T-Test analysiert. Das Signifikanzniveau wurde bei $p < 0,05$ festgelegt.

Ergebnisse

Ergebnisse aller 98 Patienten

Bezüglich der Lokalisation der Verletzungen lagen signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Nutzungsgruppen vor. Reit- und Sportpferde litten häufiger an Erkrankungen des FTs, Galopp- bzw. Trabrennpferde dagegen häufiger an Erkrankungen der OBS ($p = 0,013$ bzw. $p = 0,017$): Von den 62 vorgestellten Reit- und Sportpferden, die an FT oder OBS betroffen waren, wiesen 71,0% eine Verletzung des FTs und 29,0% eine Verletzung der OBS auf. Weitere 5 Reit- und Sportpferde wurden mit Verletzungen anderer tendinöser Strukturen, wie der TBS oder ihres Unterstützungsbandes sowie der Kollateralbänder des Fesselgelenkes, vorgestellt. Dagegen waren von insgesamt 19 Galopprennpferden nur 36,8% am FT und 63,2% an der OBS betroffen. Die insgesamt 8 Trabrennpferde wurden zu 25,0% aufgrund einer FT-Erkrankung und zu 75,0% aufgrund einer OBS-Erkrankung vorgestellt (Abb. 1). FT-Erkrankungen verteilten sich zu 61,5% auf die Vordergliedmaßen und zu 38,5% auf die Hinterglied-

maßen, während OBS-Verletzungen zu 96,2% in den Vordergliedmaßen lokalisiert waren. 55,1% der Pferde litten unter akuten, 21,4% unter chronischen und 10,2% unter rezidivierenden Sehnenkrankungen. Bei 13,3% der Tiere war nicht bekannt, wie lange die Lahmheit bereits bestanden hatte (Tab. 1).

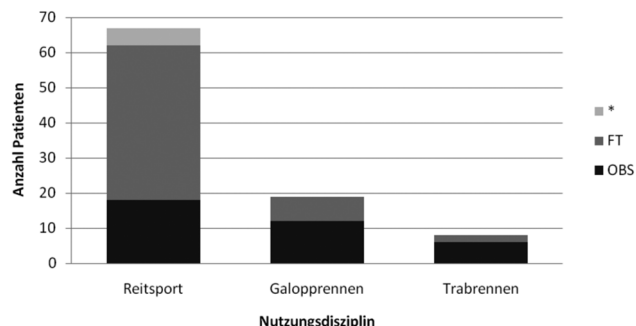


Abb. 1 Betroffene Sehnen- und Bandstrukturen in Bezug auf die Nutzungsdisziplin der Patienten. *Tiefe Beugesehne (TBS), Unterstützungsband der TBS oder Kollateralbänder des Fesselgelenks

Die Ergebnisse der Nachuntersuchungen aller 98 Patienten wiesen auf eine erfolgreiche Behandlung in 81,6% der Fälle hin. 55 dieser Pferde waren zum Zeitpunkt der Befragung wieder in ihrer vorherigen Verwendung im Sport und weitere 25 im Training. 12,2% der Pferde hatten dagegen entweder ein Rezidiv der alten Verletzung oder eine erneute Sehnenverletzung kontralateral erlitten. Außerdem waren 2,0% der Pferde ganz aus dem Sport zurückgezogen worden. Die übrigen 4,1% der 98 Pferde waren noch rekoneszent (Abb. 2).

Bei 93,9% der Patienten verlief die MSC-Behandlung ohne jegliche Komplikationen. 6,1% der Pferde zeigten nach der Applikation der MSCs eine transiente Schwellung im Injektionsbereich. Dies hatte jedoch keinerlei Auswirkung auf den Heilungserfolg, zum Zeitpunkt der Befragung konnte die Behandlung bei allen dieser Pferde als erfolgreich bewertet werden (im Sport oder Training).

Ergebnisse 12 Monate nach Behandlung

Von den insgesamt 58 Patienten, für die auch Ergebnisse nach einem Beobachtungszeitraum von mindestens 12 Monaten nach der MSC-Behandlung vorlagen, waren nach diesem Zeitraum 43 Pferde wieder in ihrer vorherigen Verwendung im Sport und 6 Pferde im Volltraining. Das Ergebnis

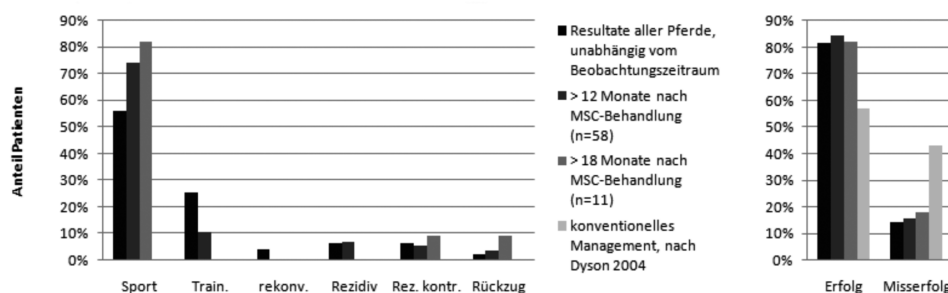


Abb. 2 Behandlungsergebnisse nach unterschiedlichen Beobachtungszeiträumen. links: Train.=Training/Volltraining; rekonv.=rekoneszent; Rez. kontr.=Sehnenverletzung kontralateral; Rückzug: ganz aus dem Sport zurückgezogen rechts: Erfolg=Sport und Training zusammengefasst; Misserfolg=Rezidive und Rückzug aus dem Sport zusammengefasst; Rekoneszente nicht berücksichtigt

der MSC-Behandlung ist demnach in 49 (84,5%) Fällen als erfolgreich zu bewerten. Rezidive der alten Verletzung oder an der kontralateralen Gliedmaße waren bei 7 Pferden aufgetreten, weitere 2 Pferde waren ganz aus dem Sport genommen worden. Insgesamt ist die Behandlung also in 9 (15,5%) Fällen als nicht erfolgreich zu bewerten (Abb. 2).

Es sind Tendenzen erkennbar, dass Erkrankungsstadium, Nutzungsrichtung und Alter der Tiere einen Einfluss auf die Erfolgsrate der MSC-Behandlung haben. Allerdings lassen sich an den hier zur Verfügung stehenden Fällen keine statistisch signifikanten Unterschiede feststellen ($p > 0,5$).

Pferde mit einer akuten Verletzung (<6 Wochen) ($n=29$) konnten zu 82,2% und Pferde mit einem chronischen Leiden (>6 Wochen) ($n=12$) zu 91,7% erfolgreich behandelt werden. Dagegen wurde bei den Pferden, die bereits bei der Vorstellung unter einer rezidivierenden Sehnenenerkrankung litten ($n=6$), nur bei 50,0% ein Erfolg erzielt (Tab. 2).

Bei Reitpferden verschiedener Nutzungsrichtungen ($n=40$) war die Behandlung in 90,0% der Fälle erfolgreich; die Dressurpferde darunter ($n=3$) waren alle erfolgreich behandelt worden. Bei Galopprennpferden ($n=11$) lag die Erfolgsrate bei 72,7%; von den Trabrennpferden ($n=3$) konnte jedoch nur eines erfolgreich behandelt werden (Tab. 2).

Junge Pferde (3 bis 6 Jahre, $n=12$), darunter 2 Trab- und 8 Galopprennpferde, waren zu 75,0% erfolgreich behandelt worden. Tiere im mittleren Alter (7 bis 12 Jahre, $n=27$), darunter hauptsächlich Reitpferde ($n=23$), erreichten eine Erfolgsrate von 88,9%, während ältere Tiere (13 bis 16 Jahre, $n=8$), ebenfalls vor allem Reitpferde ($n=7$), wiederum zu 75,0% erfolgreich behandelt worden waren (Tabelle 2).

Bei Pferden, bei denen die Verletzung in der OBS lokalisiert war ($n=19$), war die Behandlung zu 84,2% erfolgreich. Bei Erkrankungen der TBS ($n=1$) oder des Unterstützungsbandes der TBS ($n=2$) war die Behandlung in allen Fällen erfolgreich. Pferde, die unter Läsionen an verschiedenen Lokalisationen des FTs litten ($n=36$), konnten insgesamt zu 83,3% erfolgreich behandelt werden (Tabelle 2). Dabei lagen die Erfolgsraten für Läsionen am FT-Ursprung ($n=18$) bei 94,4%, für Läsionen am FT-Körper ($n=7$) bei 71,4% und für Läsionen an einem FT-Schenkel ($n=8$) bei 62,5%. Es waren jedoch keine nennenswerten Unterschiede zwischen dem Behandlungserfolg von FT-Verletzungen an Vorder- bzw. Hintergliedmaßen erkennbar.

Diskussion

Die Patientenpopulation dieser in Deutschland und der Schweiz durchgeführten Studie mit einem deutlich höheren Anteil an Reit- und Sportpferden als an Galopprennpferden kann vermutlich als recht repräsentativ für die in hier ansässigen Pferdepraxen und -kliniken vorgestellte Patientenpopulation angesehen werden. Unter den Patienten dieser Studie waren knapp zwei Drittel der Tiere am FT und nur etwa ein Drittel an der OBS erkrankt, was auf den hohen Anteil an FT-Leiden unter den vorgestellten Reit- und Sportpferden (71,0%) zurückzuführen ist. Dieses Ergebnis macht deutlich, dass gerade die Behandlung von FT-Erkrankungen in der hiesigen Pferdepraxis einen hohen Stellenwert einnimmt.

In anderen Studien werden Verletzungen der OBS als am häufigsten vorkommende Sehnen- bzw. Bänderverletzung angegeben (Ely et al. 2009), allerdings beziehen sich diese Angaben nur auf Rennpferde und sind daher eher repräsentativ für andere Länder. Unter anderem in Großbritannien wird daher die Behandlung von OBS-Verletzungen mit Stammzellen intensiv beforscht (Smith 2008a, Guest et al. 2010), während es bisher kaum veröffentlichte Daten zur MSC-Therapie von FT-Erkrankungen gibt.

Die vorliegende Studie liefert hierzu – nach unserer Kenntnis erstmalig – auf größeren Fallzahlen basierende Ergebnisse, die dazu ermutigen, MSCs verstärkt zur Behandlung von FT-Erkrankungen einzusetzen.

Die Erfolgsrate der MSC-Behandlung nach einem Beobachtungszeitraum von mindestens 12 Monaten, unabhängig davon, welche Sehnenstruktur betroffen war, lag bei insgesamt 84,5%. Ein Vergleich mit den klinischen Ergebnissen aller Pferde, die zum Teil noch vor weniger als 12 Monaten behandelt worden waren, und ein Vergleich mit den Ergebnissen der Pferde, bei denen die Behandlung bereits über 18 Monate zurücklag, zeigt, dass nur minimale Unterschiede bezüglich der Erfolgsraten nach diesen unterschiedlichen Zeiträumen existieren (Abb. 2). Daher ist zu vermuten, dass die klinischen Ergebnisse nach dem in dieser Studie gewählten Zeitraum von 12 Monaten nach der Behandlung Aussagen über den Langzeiterfolg der MSC-Therapie zulassen.

In ähnlichen Studien wurden diejenigen Pferde mit einbezogen, von denen klinische Ergebnisse entweder nach einem Zeitraum von 2 Jahren nach der Diagnose der Sehnenverlet-

Tab. 2 Erfolgsraten in Abhängigkeit von Erkrankungsstadium, Nutzungsrichtung und Alter der Pferde und der Lokalisation der Verletzung, mindestens 12 Monate nach der MSC-Behandlung.

Erkrankungsstadium	akut (<6 Wochen) ($n=29$)	chronisch (>6 Wochen) ($n=12$)	rezidivierend ($n=6$)
Erfolgsrate in %	82,2%	91,7%	50,0%
Nutzungsrichtung	Reit- und Sportpferde ($n=40$)	Galopprennpferde ($n=11$)	Trabrennpferde ($n=3$)
Erfolgsrate in %	90,0%	72,7%	33,3%
Alter	3-6 Jahre ($n=12$)	7-12 Jahre ($n=27$)	13-16 Jahre ($n=8$)
Erfolgsrate in %	75,0%	88,9%	75,0%
Betroffene Struktur	FT ($n=36$)	OBS ($n=19$)	TBS/ Unterstützungsband ($n=3$)
Erfolgsrate in %	83,3%	84,2%	100,0%

Anmerkung: Als erfolgreiche Behandlung wurde es bewertet, wenn der Patient 12 Monate nach der MSC-Injektion entweder wieder im Sport oder im Volltraining war, ohne ein Rezidiv erlitten zu haben.

zung (Pacini et al. 2007) oder nach einem Zeitraum von 48 Wochen nach der MSC-Injektion (Smith 2008a) vorlagen. Die Verletzungen waren hier immer in der OBS lokalisiert. Pacini et al. (2007) konnten berichten, dass 9 von 10 Pferden erfolgreich mit autologen MSCs behandelt worden waren, wobei es sich bei allen Pferden um Galopper handelte. In der nicht mit Stammzellen behandelten Kontrollgruppe erlitten alle 15 Tiere ein Rezidiv, nach einem mittleren Zeitraum von 7 Monaten. In der Studie von Smith (2008a) konnten von 106 Pferden aus verschiedenen Disziplinen Ergebnisse der Sehnen-therapie mit MSCs präsentiert werden; insgesamt kamen Rezidive bei 15% der Patienten vor (Rezidive an der kontralateralen Gliedmaße mit eingeschlossen), jedoch war die Häufigkeit des Auftretens abhängig von der Nutzungsdisziplin: National Hunt Pferde erlitten zu 13% ein Rezidiv, Flachrennpferde zu 36% und andere Sportpferde wiederum zu 13%. Die Erfolgsraten in diesen beiden Publikationen sind daher mit unseren Ergebnissen vergleichbar und liegen in allen Fällen zwischen 80 und 90%. Somit kann die vorliegende Studie die vielversprechenden Ergebnisse aus den bisherigen Veröffentlichungen bestätigen.

Nach konventioneller Behandlung von Tendinitiden der OBS dagegen werden Rezidivraten von bis zu 80% beschrieben (Dowling et al. 2000). Dyson (2004) publizierte Rezidivraten nach OBS-Verletzungen von 23-43% für Reitpferde und 66% für Flachrennpferde, nach konventioneller Behandlung ohne medikamentelle Therapie. Diese wiesen außerdem keine signifikanten Unterschiede auf zu den Rezidivraten von Pferden, die entweder mit Hyaluronsäure, Beta Aminopropionitril Fumarat oder polysulfatierten Glykosaminoglykanen behandelt worden waren. Ähnliche Ergebnisse, jedoch für Erkrankungen des FTs, lieferte eine Studie von Rijkenhuizen et al. (2007). Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Erfolg nach konservativer Therapie, Injektion von Kortikosteroiden, Injektion von unaufbereitetem Knochenmark, Stoßwellentherapie oder chirurgischer Intervention festgestellt werden. Die Erfolgsrate aller behandelten Pferde mit FT-Erkrankung, unabhängig von der Therapieform, lag bei 63,2%. Die Behandlung von Sehnen- und Bänderverletzungen mit MSCs führte also bisherigen Studien zufolge zu deutlich höheren Erfolgsraten beziehungsweise niedrigeren Rezidivraten als konventionelle und medikamentelle Therapien.

Gleichzeitig scheint die Applikation autologer MSCs eine sichere Behandlungsmöglichkeit darzustellen. Bei 93,9% der 98 Patienten wurden keinerlei Komplikationen dokumentiert. Geringe Komplikationen wie vorübergehende Schwellungen am Applikationsort hatten keinerlei Auswirkungen auf den Behandlungserfolg.

In der vorliegenden Studie konnten keine relevanten Unterschiede des Behandlungserfolgs bei Patienten mit akuter oder chronischer Tendinitis festgestellt werden. Es war jeweils eine hohe Erfolgsrate gegeben, wobei Patienten mit chronischer Tendinitis sogar noch erfolgreicher behandelt werden konnten (81,2% vs. 92,7%). Dies steht im Gegensatz zu bisherigen klinischen Erfahrungen: es wurde berichtet, dass Pferde, bei denen die MSCs erst zu einem späteren Zeitpunkt appliziert wurden, und demzufolge erst nach stattgefundener Fibrosierung der Läsion, schlechtere Heilungsaussichten haben. Der günstigste Zeitpunkt für die Applikation der MSCs wurde mit 1 bis 2 Monaten nach dem Verletzungsereignis angegeben,

da zu diesem Zeitpunkt die Entzündungsreaktion in der Sehne so weit voran geschritten ist, dass sich Granulationsgewebe gebildet hat, welches die MSCs aufnehmen kann, die Fibrosierung der Läsion aber noch nicht zu weit fortgeschritten ist (Smith and Webbon 2005). In einer weiteren Studie konnte Smith (2008) feststellen, dass bei erfolgreich behandelten Tieren das Intervall zwischen Verletzungsereignis und MSC-Injektion signifikant kürzer war als bei denjenigen, die ein Rezidiv erlitten (44 vs. 83 Tage). Auf diesen Ergebnissen basiert auch die in dieser Studie vorgenommene Einteilung zwischen akuten Tendinitiden, bei denen das Verletzungsereignis weniger als 6 Wochen zurücklag, und chronischen, bei denen das Verletzungsereignis mindestens 6 Wochen zurücklag.

Allerdings konnten auch in der vorliegenden Studie Patienten, die bereits mit einem Rezidiv einer alten Sehnenverletzung vorgestellt worden waren, nur zu 50,0% erfolgreich behandelt werden. Dies könnte zum einen damit zu begründen sein, dass diese Pferde möglicherweise eine insgesamt weniger belastbare Sehnenstruktur aufwiesen. Zum anderen war bei diesen Pferden vermutlich das Narbengewebe innerhalb der Sehnenläsion bereits zum Zeitpunkt der Vorstellung sehr stark ausgebildet und die Elastizität der Sehne somit schon im Vorfeld verringert. Einschränkend ist jedoch zu erwähnen, dass sich die hier vorgenommene Unterscheidung zwischen chronischen und rezidivierenden Erkrankungen vor allem auf den Vorbericht der Besitzer stützt, weswegen die Abgrenzung dieser Gruppen vermutlich nicht ganz einheitlich erfolgen konnte.

Wie oben bereits erwähnt, hat die Nutzungsdisziplin der Pferde einen großen Einfluss auf die Heilungschancen von Sehnenverletzungen. So zeigten Reit- und Sportpferde sehr gute Behandlungsergebnisse nach MSC-Therapie (Erfolgsrate 90,0%). Auch bei Galopprennpferden lag die Erfolgsrate mit 72,7% zumindest deutlich höher als nach konservativem Management beschriebene 34,0% (Dyson 2004). Bei Trabrennpferden konnte in dieser Studie nur eines von drei Pferden erfolgreich therapiert werden. Allerdings kann anhand der hier vorliegenden geringen Fallzahl an Trabern noch keine Aussage über den Nutzen der MSC-Therapie in dieser Patientengruppe getroffen werden.

Ebenso scheint ein Einfluss des Patientenalters auf den Heilungserfolg zu existieren. Das hier im Vergleich zu der 7 bis 12 jährigen Gruppe ungünstigere Ergebnis bei den 3 bis 6 jährigen Tieren (88,9% vs. 75,0%) ist allerdings vermutlich damit zu begründen, dass fast alle Pferde dieser Gruppe im Galopp- oder Trabrennsport waren. Die Verteilung der Nutzungsrichtungen in der Gruppe der 7 bis 12 jährigen und der Gruppe der über 12 Jahre alten Tiere war jedoch vergleichbar (85,2% bzw. 87,5% Reitpferde). Hier kann festgestellt werden, dass bei den älteren Tieren mit 75,0% eine geringere Erfolgsrate gegenüber den 7 bis 12 jährigen (88,9%) erzielt wurde. Dies ist möglicherweise auf die Tatsache zurückzuführen, dass bei MSCs aus dem Knochenmark bei steigendem Alter des Donors die Anzahl, Differenzierungskapazität und Lebensdauer der Zellen verringert ist (Kern et al., 2006) und demzufolge MSCs älterer Patienten nach der Applikation weniger Einfluss auf den Heilungsprozess nehmen könnten. Ebenso ist es denkbar, dass bei den älteren Pferden in einigen Fällen bereits vor der Feststellung der akuten Ver-

letzung eine subklinische Tendinitis bestand. Es ist bekannt, dass mit zunehmendem Alter von Pferden degenerative Veränderungen wie Fibroplasie, chondroide Metaplasie und Neovaskularisation in der Sehne auftreten, die zu einer Schwächung des Sehngewebes führen können (Dowling et al. 2000). Möglicherweise können injizierte MSCs unter solchen Bedingungen aufgrund der bereits vorherrschenden Fibroplasie schlechter die Heilung beeinflussen, so wie es bei Patienten mit rezidivierender Tendinitis auch der Fall ist.

Der Gesamterfolg aller FT-Behandlungen war fast identisch mit dem nach OBS-Behandlung. Allerdings scheinen Unterschiede bezüglich der innerhalb des FTs betroffenen Struktur zu bestehen. FT-Ursprungsdesmopathien zeigten mit 94,4% den besten Behandlungserfolg, obwohl gerade für Erkrankungen des FT-Ursprungs publiziert wurde, dass nur 12,5% von 32 betroffenen Pferden nach konventioneller Therapie wieder dauerhaft im Sport einsetzbar waren. Diese Daten bezogen sich jedoch nur auf Desmopathien der Hintergliedmaßen (Dyson 1991). Dagegen hat die Behandlung der FT-Schenkel dieser Studie zufolge weniger gute Erfolgschancen (62,5%). Möglicherweise ist der höhere Behandlungserfolg der MSC-Therapie am FT-Ursprung damit zu begründen, dass dort der Verbleib der MSCs im Läsionsbereich besser gegeben ist als im Bereich der FT-Schenkel, wo aufgrund der in dieser Region befindlichen Gelenke mehr Beweglichkeit herrscht. Obwohl allgemein für FT-Erkrankungen der Hintergliedmaßen eine ungünstigere Prognose angenommen wird, konnten in dieser Studie keine eindeutigen Unterschiede bezüglich des Behandlungserfolgs bei Vorder- und Hintergliedmaßen festgestellt werden.

Die vorliegende Studie wurde als multizentrische Fallstudie durchgeführt. Durch enge Kooperation mit allen beteiligten Tierärzten wurde zwar eine größtmögliche Vereinheitlichung der Behandlungsprozedur angestrebt, trotzdem ist unter klinischen Bedingungen eine vollständige Standardisierung bei großen Fallzahlen kaum möglich. Daher sind gewisse Unterschiede in der Beurteilung der klinischen Ergebnisse zwischen den behandelnden Tierärzten nicht auszuschließen. Ein weiteres Defizit dieser Studie ist das Fehlen einer echten Kontrollgruppe mit randomisiert und verblindet zugeordneten Patienten. Auch dies wäre aber aus ethischen Gründen und aufgrund mangelnder Kooperation der meisten Patientenbesitzer unter klinischen Bedingungen kaum durchführbar gewesen. Als Kontrollgruppe wurden daher Daten aus der Literatur (Dyson 2004) herangezogen, so wie es in ähnlichen Studien ebenfalls praktiziert wurde (Smith 2008a). Aufgrund der recht großen Fallzahl der vorliegenden Studie und der Übereinstimmung unserer Ergebnisse mit denen aus bislang vorliegenden Publikationen (Pacini et al. 2007, Smith 2008a) ist trotz der genannten Defizite davon auszugehen, dass diese Studie Aussagen über den Behandlungserfolg der MSC-Sehnenentherapie zulässt.

Zukünftige Studien werden zeigen, ob sich diese bisherigen vielversprechenden Ergebnisse weiterhin bestätigen, insbesondere hinsichtlich der Eignung der Stammzellentherapie für Pferde verschiedener Nutzungsrichtungen und verschiedenen Alters. Überdies gibt es zahlreiche Ansätze, den Einsatzbereich der MSC-Therapie zu erweitern und die klinischen Ergebnisse noch zu verbessern. Solche Möglichkeiten, wie zum Beispiel die gleichzeitige Applikation von Wachstumsfak-

toren (Schnabel et al. 2009), die Vordifferenzierung der MSCs in tenogene Richtung (Violini et al. 2009), oder die Verwendung alternativer Quellen für MSCs (Koch et al. 2007, Passeri et al. 2009) sind zwar noch nicht für die klinische Anwendung etabliert, können aber für die Zukunft von großer Bedeutung sein.

Danksagung

Die Autoren danken PD Dr. Pierre Mainil-Varlet, Dr. Constanze Csaki, Vreni Winkelmann und Chantal Pauli der Osteo-Articular Research Group des Instituts für Pathologie der Universität Bern, Dr. Urs Geissbühler und der Abteilung für klinische Radiologie des Departementes für klinische Veterinärmedizin der Universität Bern sowie Dr. Petra Ohnemus und der Pferdeklinik an der Rennbahn Baden Baden-Iffezheim, Dr. Hans-Georg Stihl mit Dr. Cosima von Saldern und der Pferdeklinik Ins, Dr. Werner Jahn mit Julie Pokar und Volker Sill und der Pferdeklinik Bargteheide, Dr. Martin Stöckli und der Tierklinik Dalchenhof, der Tierarztpraxis Dr. Olaf Bey, Dr. Rüdiger Brems und der Tierärztlichen Klinik für Pferde Wolfesing, Dr. Theo Tschanz und der Pferdeklinik Neugraben AG und Dr. Aleksandar Vidovic und der Tierärztlichen Klinik für Pferde Altforweiler für ihre Mitarbeit, sowie der Akademie für Tiergesundheit und der Studienstiftung des deutschen Volkes für ihre Unterstützung.

Literatur

- Dowling B. A., Dart A. J., Hodgson D. R. und Smith R. K. (2000) Superficial digital flexor tendonitis in the horse. *Equine Vet. J.* 32, 369-378
- Dyson S. (1991). Proximal suspensory desmitis: clinical, ultrasonographic and radiographic features. *Equine Vet. J.* 23, 25-31
- Dyson S. J. (2004) Medical management of superficial digital flexor tendonitis: a comparative study in 219 horses (1992-2000). *Equine Vet. J.* 36, 415-419
- Ely E. R., Avella C. S., Price J. S., Smith R. K., Wood J. L. und Verheyen K. L. (2009) Descriptive epidemiology of fracture, tendon and suspensory ligament injuries in National Hunt racehorses in training. *Equine Vet. J.* 41, 372-378
- Guest D. J., Smith M. R. und Allen W. R. (2010) Equine embryonic stem-like cells and mesenchymal stromal cells have different survival rates and migration patterns following their injection into damaged superficial digital flexor tendon. *Equine Vet. J.* 42, 636-642
- Kasashima Y., Takahashi T., Smith R. K., Goodship A. E., Kuwano A., Ueno T. und Hirano S. (2004) Prevalence of superficial digital flexor tendonitis and suspensory desmitis in Japanese Thoroughbred flat racehorses in 1999. *Equine Vet. J.* 36, 346-350
- Kern S., Eichler H., Stoeve J., Kluter H. und Bieback K. (2006). Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells* 24, 1294-1301
- Koch T. G., Heerkens T., Thomsen P. D. und Betts D. H. (2007) Isolation of mesenchymal stem cells from equine umbilical cord blood. *BMC. Biotechnol.* 7, 26
- Mountford D. R., Smith R. K. und Patterson-Kane J. C. (2006) Mesenchymal stem cell treatment of suspensory ligament branch desmitis; post mortem findings in a 10 year old Russian Warmblood gelding- a case report. *Pferdeheilkunde* 22, 559-563
- Pacini S., Spinabella S., Trombi L., Fazzi R., Galimberti S., Dini F., Carlucci F. und Petrini M. (2007) Suspension of bone marrow-derived undifferentiated mesenchymal stromal cells for repair of superficial digital flexor tendon in race horses. *Tissue Eng.* 13, 2949-2955

- Passeri S., Nocchi F., Lamanna R., Lapi S., Miragliotta V., Giannessi E., Abramo F., Stornelli M. R., Matarazzo M., Plenteda D., Urciuoli P., Scatena F. und Coli A. (2009) Isolation and expansion of equine umbilical cord-derived matrix cells (EUCMCs). *Cell Biol. Int.* 33, 100-105
- Richardson L. E., Dudhia J., Clegg P. D. und Smith R. (2007) Stem cells in veterinary medicine—attempts at regenerating equine tendon after injury. *Trends Biotechnol.* 25, 409-416
- Schnabel L. V., Lynch M. E., van der Meulen M. C., Yeager A. E., Kornatowski M. A. und Nixon A. J. (2009) Mesenchymal stem cells and insulin-like growth factor-I gene-enhanced mesenchymal stem cells improve structural aspects of healing in equine flexor digitorum superficialis tendons. *J. Orthop. Res.* 27, 1392-1398
- Smith R. K. (2008a) Mesenchymal stem cell therapy for equine tendinopathy. *Disabil. Rehabil.* 30, 1752-1758
- Smith R. K. (2008b) Stem cell therapy for tendon and ligament injuries in the horse- technique and outcome. *Pferdeheilkunde* 24, 513-518
- Smith R. K., Korda M., Blunn G. W. und Goodship A. E. (2003) Isolation and implantation of autologous equine mesenchymal stem cells from bone marrow into the superficial digital flexor tendon as a potential novel treatment. *Equine Vet. J.* 35, 99-102
- Smith R. K. and Webbon P. M. (2005) Harnessing the stem cell for the treatment of tendon injuries: heralding a new dawn? *Br. J. Sports Med.* 39, 582-584
- Violini S., Ramelli P., Pisani L. F., Gorni C. und Mariani P. (2009) Horse bone marrow mesenchymal stem cells express embryo stem cell markers and show the ability for tenogenic differentiation by in vitro exposure to BMP-12. *BMC. Cell Biol.* 10, 29

Prof. Dr. Walter Brehm
Veterinärmedizinische Fakultät
Universität Leipzig
Chirurgische Tierklinik
An den Tierkliniken 11
04103 Leipzig
brehm@vetmed.uni-leipzig.de