

# Regenerative Therapie von Sehnen- und Bänderkrankungen bei Pferden: Ergebnisse der Behandlung mit Stammzellen, Blutprodukten, Gerüstsubstanzen und Wachstumsfaktoren – eine Literaturübersicht und Metaanalyse

Florian Geburek und Peter Stadler

Klinik für Pferde, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

## Zusammenfassung

Herkömmliche Behandlungsansätze bei Sehnen- und Bänderkrankungen führen nach einer langen Heilungsphase zur Entstehung von funktionell minderwertigem Ersatzgewebe (Reparatur). Daraus resultiert eine relativ hohe Rezidivrate. Intraläsionalen Behandlungen mit Zellen, Blutprodukten, Gerüstsubstanzen und biologischen Faktoren wie z.B. Wachstumsfaktoren wird hingegen ein regenerativer Effekt zugeschrieben. In der vorliegenden Arbeit werden u.a. die wesentlichen Erkenntnisse zur Wirkung von mesenchymalen stromalen Zellen (MSCs) aus Knochenmark und Fettgewebe, von embryonalen Stammzellen (ESCs) sowie der Blutprodukte PRP (Thrombozytenreiches Plasma), ACP (autologes konditioniertes Plasma), ACS (autologes konditioniertes Serum) an lebenden Pferden vorgestellt und diskutiert. Es liegen bezogen auf das Pferd in der Literatur Untersuchungen mit folgenden Methoden vor: 1.) Klinische Fallserien, die über die Angabe einer Rezidivrate einen bedingten Vergleich zu Ergebnissen anderer Behandlungsformen erlauben. 2.) Tierexperimentelle kontrollierte Untersuchungen an künstlich erzeugten Sehnendefekten, die vielfach detaillierte Ergebnisse zur feingeweblichen, biochemischen und biomechanischen Qualität des Ersatzgewebes liefern. 3.) Einzelne plazebokontrollierte Untersuchungen an natürlich entstandenen Tendopathien, die zwar theoretisch den höchsten Grad der Evidenz aufweisen aber methodische Schwachstellen aufweisen. Unter anderem werden die Vorzüge und Nachteile der verschiedenen Therapeutika, ihre biologische Sicherheit, ihr Effekt im Hinblick auf die strukturellen und biomechanischen Eigenschaften der verschiedenen Sehnen- und Bandstrukturen sowie ihr Einfluss auf die Rezidivrate von Sehnen- und Bänderkrankungen und auf die Gebrauchsfähigkeit der Pferde dargestellt und diskutiert. Es zeigt sich ein Trend zur Überlegenheit von Substraten mit regenerativem Potential gegenüber anderen Behandlungsformen wenngleich noch unklar ist, welches Produkt bzw. welche Kombination von Substraten im Einzelfall am besten geeignet ist.

**Schlüsselwörter:** Pferd / Sehne / Band / Fesselträger / regenerative Medizin / Knochenmark / Fettgewebe / Stammzellen / MSC / PRP / ACP / ACS / IRAP

## Regenerative therapy for tendon and ligament disorders in horses: results of treatment with stemcells, blood products, scaffolds and growth factors – review of the literature and meta analysis

Conventional treatments for tendon and ligament disorders give rise to functionally inferior repair tissue within a relatively long healing phase which results in a relatively high recurrence rate. There is however increasing evidence that intralésional treatments with cells, blood products, scaffolds and biological factors such as growth factors have a regenerative effect. In the present review the principal scientific findings on the clinical effects in living horses of, for example, bone-marrow-derived and adipose-tissue-derived mesenchymal stromal cells (MSCs), embryonic stem cells (ESCs) and blood products such as PRP (platelet rich plasma), ACP (autologous conditioned plasma) and ACS (autologous conditioned serum) are summarized and discussed. Relating to horses, several scientific investigations with different study designs can be found in the literature: 1) Clinical case series, which allow a limited comparison of different treatment methods on the basis of the resulting recurrence rate. 2) Experimental animal studies on controlled artificial tendon defects, which often provide detailed results on the histological, biochemical and biomechanical quality of repair tissue. 3) Single placebo-controlled studies of naturally occurring tendinopathies which should, at least theoretically, provide the highest degree of evidence, however show methodological weaknesses in many cases. Among other aspects, the advantages and disadvantages of the various substrates, their biological safety, their effect with regard to the structural and biomechanical properties of different tendons and ligaments and their effect on the recurrence rate of tendon and ligament disorders are described and discussed. There is increasing evidence that substrates with regenerative potential are superior to other, i.e. conventional, treatments although it is still not clear which product or combination of substrates is most appropriate in individual cases.

**Keywords:** horse / tendon / ligament / suspensory ligament / regenerative medicine / bone marrow / adipose tissue / stem cell / MSC / PRP / ACP / ACS / IRAP

## Einleitung

Nach Tendopathien der oberflächlichen Beugesehne (OBS) kehren nur ca. 40-60% der Pferde in den Sport zurück. Danach liegt die Rezidivrate, je nach Nutzungsrichtung, zwischen 23% und 67% (Rennpferde: 53-67%) (Dyson 2004,

O'Meara et al. 2011). Die intraläsionale Behandlung mit Hyaluronsäure oder polysulfatierten Glykosaminoglykanen (PSGAG) hat dabei im Vergleich zur Therapie mit kontrollierter Bewegung keine bessere therapeutische Wirkung (Dyson 2004).

Die Heilung von Erkrankungen z.B. des Fesselträgers (FT) nimmt nach Literaturangaben je nach Lokalisation (Vorder-/Hinterhand), Dauer der Erkrankung (akut/chronisch) und Art der konventionellen Behandlung mindestens 3-9 Monate in Anspruch (Dyson und Genovese 2003). Chronische und rezidivierende Fesselträgererursprungserkrankungen an der Hinterhand haben nach Literaturangaben eine schlechte Prognose: Nur 14% der Pferde erreichten in einer Untersuchung nach 6 Monaten (systemische Gabe von PSGAG, orthopädischer Hufbeschlag, kontrollierte Bewegung) wieder ihr ursprüngliches Leistungsniveau (Dyson 1994). Diese Rate kann sich nach Stoßwellentherapie auf 41% verbessern (Crowe et al. 2004). Die Prognose von akuten Erkrankungen des Fesselträgerursprungs an der Vorderhand ist hingegen gut bis sehr gut. Ungefähr 90% der Pferde sind nach 3 Monaten (Boxenruhe, kontrollierter Bewegung) wieder voll einsetzbar (Personett et al. 1983, Dyson 2000). Zur Prognose von chronischen Erkrankungen des Fesselträgerursprungs ausschließlich an der Vorderhand sind uns keine Angaben aus der Literatur bekannt. Nach einer Untersuchung, in der die Lokalisation innerhalb des Fesselträgers unberücksichtigt blieb, erreichten 58% der Pferde mit FT-Erkrankungen an der Vorderhand ihr ursprüngliches Leistungsniveau, während 22% der Patienten mit FT-Schäden an der Hinterhand wieder entsprechend eingesetzt werden konnten (van den Belt et al. 1994). Bleibt die Lokalisation (Vorder-/Hinterhand) der Fesselträgerursprungsläsion unberücksichtigt, wird die Prognose hinsichtlich erfolgreicher Wiederaufnahme der ursprünglichen Nutzung (nach Boxenruhe und kontrollierter Bewegung) mit 66-86% wiedergegeben (Dyson 1994, Rijkenhuizen et al. 2007).

Zusammenfassend verläuft die Sehnen- und Bandheilung langsam (van Schie et al. 2009) und bisherige Behandlungsformen sind vielfach unbefriedigend (Dyson 2004), weil sie zur Entstehung eines funktionell minderwertigen Ersatzgewebes (Reparatur) (Dowling et al. 2000) mit einer hohen Rezidivrate führen (Thorpe et al. 2010). In den letzten Jahren wurden deshalb verschiedene Therapieansätze mit regenerativem Potential wie z.B. zellbasierte Substrate, Blutprodukte und Gerüstsubstanzen zur Behandlung von Sehnen- und Bänderkrankungen aufgrund von Untersuchungen *in vitro*, an Labortieren und am Menschen angewendet, denn diese Untersuchungen liefern Hinweise darauf, dass es zu einer Regeneration der geschädigten Struktur mit funktioneller und struktureller Verbesserung gegenüber fibrösem Narbengewebe kommen könnte (Geburek und Stadler 2011). Mehrere Arbeitsgruppen erforschen derzeit die Wirkung regenerativer Therapeutika auf Sehnen- und Bandläsionen an lebenden Pferden intensiv: In der Literatur sind zunehmend placebo-kontrollierte, verblindete tierexperimentelle Studien und sogar einzelne kontrollierte Untersuchungen an natürlich vorkommenden Tendopathien von Pferden verfügbar, die nachfolgend zusammengefasst und diskutiert werden. Die Ergebnisse wesentlicher Kasuistiken in Bezug auf die Erfolgs- und Rezidivrate sind in Tabelle 1 dargestellt.

## Quellen

Die Datenbanken PubMed, Web of Science und die Internet Suchmaschine Google wurden nach den Stichworten „Pferd“, „Sehne“, „Fesselträger“ und „Knochenmark“, „Stammzellen“, „Knochenmarkaspirat Konzentrat“, „thrombozytenreiches

Plasma“, „autologes konditioniertes Serum“, „IRAP“, „autologes konditioniertes Plasma“ (bzw. den entsprechenden Abkürzungen und englischen Stichworten) durchsucht.

## Behandlung mit stammzellhaltigen Substraten und deren Nebenprodukten

Zur therapeutischen und experimentellen Behandlung von natürlich auftretenden Sehnen- und Bänderkrankungen werden beim Pferd derzeit in erster Linie mesenchymale stromale Zellen bzw. mesenchymale Stammzellen (Acronym für beide: MSCs) aus dem Knochenmark (Smith et al. 2003, Fortier und Smith 2008, Burk und Brehm 2010, Godwin et al. 2011), aus Fettgewebe (Richardson et al. 2007, Del Bue 2008, Nixon et al. 2008, Dahlgren 2009a, Leppänen et al. 2009a) und seltener aus Nabelschnurblut (Koch et al. 2007, Ribitsch et al. 2009) gewonnen. Die Zahl der experimentellen Untersuchungen zur Anwendung embryonaler Stammzellen bei Pferden nimmt zu (Guest und Allen 2009, Guest et al. 2010, Paris und Stout 2010).

### Art der Applikation

Stammzellen aus Knochenmark werden meistens in einer geringen Menge des autologen Knochenmarküberstandes („bone marrow supernatant“, „Knochenmarkserum“) suspendiert, Stammzellen aus Fettgewebe werden z.B. in PBS (phosphatgepufferte Kochsalzlösung) aufgeschwemmt (Nixon et al. 2008). Die Injektion eines Volumens von ca. 0,6-3 ml in die Sehne erfolgt üblicherweise in Sedierung und unter Leitungs- und Lokalanästhesie im Bereich der Injektionsstelle. Die Punktion der Kernläsion kann am stehenden oder am aufgehobenen Fuß erfolgen und geschieht vorteilhafterweise unter sonographischer Kontrolle (sterile Bedingungen) entweder im Faserverlauf oder quer dazu. Üblicherweise werden für die zumeist einmalige Applikation Kanülen mit einer Durchmesser von 19-23 G verwendet (Smith 2008b, Dahlgren 2009b). Die Anzahl der Punktionen variiert (z.B. 1-4) und wird meist von der Größe der Läsion und vom Substrat abhängig gemacht (Godwin et al. 2011).

### Zeitpunkt der Applikation von stammzellhaltigen Substraten

Der optimale Zeitpunkt für die Applikation von Substanzen mit regenerativem Potential orientiert sich idealerweise an der Art ihrer Wirkung (Bosch 2009), und er ist noch für keine Stammzellart, Läsion und Spezies bekannt (Koch et al. 2009). Pferde mit Tendopathien der OBS, die 83 Tage nach dem Insult mit Stammzellen behandelt wurden, zeigten Rezidive. Dagegen blieben Pferde, die 44 Tage nach dem Insult dieselbe Behandlung erhielten, rezidivlos. Es wurde vermutet, dass die später behandelten Sehnen zum Zeitpunkt der Behandlung bereits unelastisches Narbengewebe aufwiesen (Smith und Webbon 2005, Fortier und Smith 2008). In einer aktuellen Untersuchung zeigte sich, dass die durchschnittliche Dauer zwischen der Entstehung des Sehnenschadens und der Implantation von MSCs aus Knochenmark bei den Pferden ohne Rezidiv bei  $\emptyset$  46 Tagen und bei denjenigen, die ein Rezidiv entwickelten, bei  $\emptyset$  53.3 Tagen lag (Unterschied nicht signifikant). Nach Einteilung der Pferde in die Gruppen „Behandlung  $\leq$  5 Wochen“, „Behandlung zwischen 6 und 8 Wochen“ und „Behandlung  $\geq$  9 Wochen“ (jeweils nach Insult) stieg die Rezidivrate konti-

nuierlich von 20,8% über 24,1% bis auf 35% (Godwin et al. 2011). Wenngleich diese Unterschiede ebenfalls nicht signifikant waren, deuten auch diese Ergebnisse darauf hin, dass es mit zunehmender Dauer zu einer Zunahme unelastischen Narbengewebes in der Läsion kommt. Deshalb wird derzeit empfohlen, die Stammzellbehandlung nach der akuten Entzündungsphase (Dauer ca. bis Tag 10) und idealerweise vor der Entstehung von Narbengewebe (Reifungs- oder Umbauphase, ca. ab Tag 45), also innerhalb von 3-4 Wochen nach dem Insult in der Proliferationsphase vorzunehmen (Dahlgren 2009b). Bei Kultivierung von MSCs ist es nicht immer möglich, diese Zeitspanne einzuhalten.

#### Substrate aus Knochenmark

Behandlung natürlich entstandener Sehnen- und Bandschäden mit nativen Knochenmarksaspiraten

Zur Behandlung von Erkrankungen des FTs mit Knochenmarksaspiraten liegen unkontrollierte Fallsammlungen vor. Es wurden in einer Studie 5-30 ml Knochenmarksaspirat in den Bereich der Läsion platziert (67% Vordergliedmaße, 33% Hintergliedmaße). Von 24 Pferden waren nach 6 Monaten 75% wieder in vollem Training (Rosenbrock et al. 2004a). In einem Beitrag, der offenbar auf die selben Daten zurückgreift, wird eine Rezidivrate (Zeitraum 6-18 Monate nach Behandlung) von 4% angegeben (Rosenbrock et al. 2004b). In einer anderen Fallsammlung wurden von 100 Pferden 84 (19 Vordergliedmaßen, 81 Hintergliedmaßen) nach Behandlung mit Knochenmark nach 6 Monaten Rekonvaleszenz wieder in vollem Umfang genutzt und waren lahmheitsfrei (Herthel 2001, Herthel 2003). Lediglich 2 Pferde wiesen 2-3 Tage nach Behandlung eine lokal erhöhte Schmerzhaftigkeit auf. Fünfzehn Pferde wurden allerdings begleitend chirurgisch durch Fasziotomie bzw. Resektion des Retinaculum flexorum behandelt. Wissenschaftliche Studien von hoher Evidenz (kontrollierte und verblindete Studien) zur Applikation von nativem Knochenmark in Sehnen- und Bandschäden liegen nach Kenntnis der Autoren nicht vor.

Behandlung natürlich entstandener Sehnen- und Bandschäden mit azellulärem Knochenmark

Zum Einsatz von azellulärem Knochenmarküberstand liegt unter der Bezeichnung „autologes konditioniertes Plasma aus Knochenmark“ („bone marrow-autologous conditioned plasma“, BM-ACP) das mit dem ACP kit (Fa. Arthrex GmbH, Karlsfeld), hergestellt wird, ein Erfahrungsbericht an 28 Pferden vor. Dabei wurden Knochenmarksaspirate unter Zugabe von Zitrat zentrifugiert (siehe auch ACP) und der plasmaartige Überstand vornehmlich bei Pferden mit sonographisch diagnostizierten Desmopathien des Fesselträgerursprungs intraläsional injiziert. Bei ca. 67% der Patienten mit Desmopathie des Fesselträgerursprungs an der Vorderhand war nach maximal 3 Monaten keine Lahmheit mehr feststellbar, ca. 55 % der Patienten mit Desmopathie an der Hinterhand waren nach einer Zeit von maximal 3 Monaten ohne Lahmheit (Künneke et al. 2008). Eine Differenzierung nach Alter der Läsionen wurde in der Untersuchung zum BM-ACP nicht vorgenommen, auch fehlt eine Aussage über die Rezidivrate. Eine kontrollierte, verblindete Studie zum Einsatz von azellulärem Knochenmark ist für das Pferd nach unserer Kenntnis noch nicht verfügbar.

Nicht kultivierte mononukleäre Zellen aus Knochenmark (bone marrow mononucleated cells, BMMNCs)

Behandlung experimentell erzeugter Sehnen-schäden:  
Plazebo-kontrollierte Studien

Zur Anwendung von BMMNCs bei equinen Sehnen- und Bandschäden liegen Erfahrungsberichte und einzelne plazebokontrollierte tierexperimentelle Untersuchungen an der OBS (Kollagenase Modell) an 3 bzw. 6 Pferden vor (Crovace et al. 2007, Crovace et al. 2010). Gegenüber der Plazebobehandlung wurden eine verbesserte Sehnenarchitektur, ein verbessertes Kollagen I/III Verhältnis sowie eine erhöhte Expression von COMP (Glykoprotein, das die extrazelluläre Matrix stabilisiert) nachgewiesen (Crovace et al. 2010). Eine Kontrolle hinsichtlich der Gliedmaßenfunktion bzw. der Rezidivrate erfolgte nicht. In einer weiteren Untersuchung an 6 Pferden wurden die Sehnenläsionen 12 Tage nach der Erzeugung mit BMMNCs behandelt oder blieben unbehandelt. Nach 48 Tagen mit kontrolliertem Bewegungsregime erfolgte die Entnahme von Sehnenbiopsien, deren feingewebliche Analyse in der Therapiegruppe Hinweise auf eine starke Infiltration mit Entzündungszellen, die Synthese von extrazellulärer Matrix, Reduktion von Bereichen mit nekrotischem Gewebe sowie eine geringfügig erhöhte zelluläre Proliferationsrate lieferte. Die Befunde werden als Anzeichen einer beschleunigten Sehnenheilung bewertet (Barreira et al. 2008). Behandlung natürlich entstandener Sehnen- u. Bandschäden Zur Behandlung von natürlich entstandener Sehnen- u. Bandschäden liegen nach unserer Kenntnis keine kontrollierten Studien vor.

Kultivierte MSCs aus Knochenmark (BM-MSCs)

Behandlung experimentell erzeugter Sehnen-schäden:  
Plazebo-kontrollierte Studien

Nach einer Voruntersuchung an 3 Pferden (Crovace et al. 2008) wurden in einer Untersuchung an 6 Pferden Sehnenläsionen der OBS mit Kollagenase erzeugt und unverblindet mit expandierten, d.h. kultivierten MSCs aus Knochenmark in Fibrinkleber, frischen mononukleären Zellen aus Knochenmark in Fibrinkleber, nur mit Fibrinkleber oder nur mit einem Plazebo behandelt (Crovace et al. 2010). Das Kollagen I/III Verhältnis, die Expression von COMP und die Sehnenarchitektur waren nach Behandlung mit beiden zellhaltigen Substraten (MSCs und BMMNCs) nach einer Beobachtungszeit von 21 Wochen gegenüber der Plazebobehandlung besser (s.o). In einer vergleichenden Untersuchung zur Wirkung von MSCs aus Knochenmark und IGF-I exprimierenden MSCs aus Knochenmark (s.u.) führte die Behandlung mit beiden Zelltypen zu einer Verbesserung des histologischen Scores (Schnebel et al. 2009). Eine ultrastrukturelle (transmissionselektronenmikroskopische) Untersuchung von Sehnen-gewebe nach mechanischer Schädigung und Behandlung mit BM-MSCs lieferte keine Unterschiede zur Kontrollgruppe in Bezug auf den Durchmesser der Kollagenfasern während der ersten 4 Monate des Heilungsprozesses (Schramme et al. 2011).

Behandlung natürlich entstandener Sehnen- u. Bandschäden:  
Erfolgskontrolle durch Ermittlung der Rezidivrate

Hinsichtlich der Behandlung von natürlich entstandenen Tendopathien und Desmopathien mit MSCs aus Knochenmark liegen klinische Erfahrungen an einer großen Anzahl von Pferden

**Tab. 1** Vergleich ausgewählter Studien zur Behandlung natürlich entstandener Sehnen u. Bandschäden bei Pferden ausschließlich mit kontrollierter Bewegung oder zu  
*Comparsion of selected studies on the treatment of naturally occurring tendinopathies and desmopathies in horses treated with controlled exercise alone or ad*

Behandelte Struktur	Substrat	Autoren	Anzahl Pferde	
OBS	Behandlung nur mit kontrollierter Bewegung	Dyson (2004)	15	
		Sawdon et al. (1996)	54	
		Sawdon et al. (1996)	52	
		Gillis (1997)	28	
	Kultivierte MSCs (Knochenmark)	Smith (2008b)	172	
		Smith (2008b)	22	
		Godwin et al. (2011)	113	
FT Ursprung	Behandlung nur mit kontrollierter Bewegung u. orthopädischem Hufbeschlag	VO + HI: Dyson (2000)	29	
		VO: Personett (1983)	11	
		HI: Rijkenhuizen et al. (2007)**	18	
FT Körper	Behandlung nur mit kontrollierter Bewegung	keine Untersuchung		
		Kultivierte MSCs (Knochenmark)	Burk und Brehm (2011)	7
		PRP	Waselau et al. (2008)	9
FT Schenkel	Behandlung nur mit kontrollierter Bewegung	keine Untersuchung		
		Kultivierte MSCs (Knochenmark)	Burk und Brehm (2011)	8
		PRP (Filtrationsmethode)	Castelijns et al. (2011)	15
FT ohne Berücksichtigung d. Lokalisation	Behandlung nur mit kontrollierter Bewegung	Rijkenhuizen et al. (2007) **	101	
		Herthel (2001)*** Herthel (2003)	100 19 VO 81 HI	
	Native Knochenmarkspirate	Rosenbrock et al. (2004b) ****	24	
		Rosenbrock et al. (2004a)****	24	
	Kultivierte MSCs (Knochenmark)	Burk und Brehm (2011)	36	
		PRP (verschiedene Zubereitungen)	Lutz et al. (2010)	75
		UBM	Lutz et al. (2010)	34
OBS, TBS, USB, FT gemischt	Behandlung nur mit kontrollierter Bewegung	keine Untersuchung		
		Burk und Brehm (2011)	58	
	MSCs aus Fettgewebe	Ferris (2009)	61	
		Dahlgren (2009)	ca. 1000	
		Leppänen et al. (2009a) (zumeist OBS u. FT)	31	
Leppänen et al. (2009a) (zumeist OBS u. FT)	53			
OBS u. FT	Behandlung nur mit kontrollierter Bewegung	keine Untersuchung		
		Kombination aus BMMNCs u. PRP	Toricelli et al. (2011)	13

BM-ACP = bone marrow autologous conditioned plasma; BMMNCs = bone marrow mononucleated cells (= kernhaltige Zellen aus Knochenmark); FT = Fesselträger; OBS = oberflächliche (= thrombozytenreiches Plasma); UBM = urinary bladder matrix; ursprüngl. = ursprüngliches; Wo. = Wochen; k.A. = keine Angaben; \* einschließlich kontralateraler Gliedmaße; \*\* Umfrage

zusätzlich mit potentiell regenerativen Therapeutika  
 additionally with potentially regenerative substrates

Nutzungsrichtungen	Prüfzeitraum (Monate)	Erfolgsmerkmal	Rate	Rezidivrate nach Behandlung
Galopprennpferde (Flach u. Hürdenrennen)	24 Mo.	Nutzung im Sport auf urspr. Niveau	11/15	54,5% (6/11)
Galopprennpferde	k.A.	Teilnahme an > 5 Rennen	66,6%	k.A.
Trabrennpferde	k.A.	Teilnahme an > 5 Rennen	52%	k.A.
Galopprennpferde	k.A.	Nutzung im Sport auf urspr. Niveau	71 %	k.A.
Galopprennpferde (Flach u. Hürdenrennen)	> 12 Mo.	Nutzung im Sport	k.A.	27% (34%*)
Galopprennpferde (Flach u. Hürdenrennen)	> 24 Mo.	Nutzung im Sport	k.A.	32% (41%*)
Galopprennpferde (Flach u. Hürdenrennen)	> 24 Mo.	Nutzung im Sport	111/113	27,4% (31/113)
Galopprennpferde	12 Mo.	Nutzung im Sport	9/11	k.A.
verschiedene	> 12 Mo.	Nutzung im Sport oder Volltraining ohne Rezidiv	84,2%	k.A.
verschiedene	> 3 Mo.	Nutzung in vollem Umfang	86%	k.A.
verschiedene	> 3 Mo.	Nutzung in vollem Umfang	91%	k.A.
verschiedene	> 12 Mo	gebrauchsfähig	72,2%	k.A.
verschiedene	3 Mo.	ohne Lahmheit	67% (VO), 54% (HI)	k.A.
verschiedene	> 12 Mo.	Nutzung im Sport oder Volltraining ohne Rezidiv	94%	k.A.
verschiedene	> 12 Mo.	Nutzung im Sport oder Volltraining ohne Rezidiv	71,4%	k.A.
Trabrennpferde	36 Mo.	Nutzung im Sport	100%	k.A.
verschiedene	> 12 Mo.	Nutzung im Sport oder Volltraining ohne Rezidiv	63%	k.A.
verschiedene	12-36 Mo.	ursprüngliches Leistungsniveau	5/11	k.A.
verschiedene	> 12 Mo.	gebrauchsfähig	66%	k.A.
verschiedene	6 Mo.	Nutzung in vollem Umfang ohne Lahmheit	84%	k.A.
Dressur- u. Springpferde	6-18 Mo.	Nutzung im Sport oder Volltraining	87,5%	4,2 %
verschiedene	6 Mo.	in vollen Training	75%	1/24
verschiedene	> 12 Mo.	Nutzung im Sport oder Volltraining ohne Rezidiv	83,3 %	k.A.
verschiedene	29 Wo.	ursprüngliches Leistungsniveau	42%	17%
verschiedene	42 Wo.	ursprüngliches Leistungsniveau	61%	18%
verschiedene	> 12 Mo.	Nutzung im Sport oder Volltraining ohne Rezidiv	84,5 %	13%* (7/58)
verschiedene	Ø 21 Mo.	nicht mehr lahm	85%	k.A.
Sportpferde	k.A.	ursprüngliches Leistungsniveau	78%	k.A.
zumeist Trabrennpferde	12 Mo.	wieder sportlich genutzt	85%	12%
zumeist Trabrennpferde	24 Mo.	wieder sportlich genutzt	60,4%	13,2%
Sportpferde	2-12 Mo.	Nutzung im Sport	84,6%	k.A.

Beugesehne; TBS = tiefe Beugesehne; USB = Unterstützungsband der tiefen Beugesehne; Mo. = Monate; VO = Vordergliedmaße; HI = Hintergliedmaße; PRP = platelet rich plasma; \*\*\*15 Pferde, zusätzlich durch Desmotomie/Fasziotomie behandelt, keine Differenzierung zwischen VO u. HI; \*\*\*\*Keine Differenzierung des Ergebnisses zwischen VO u. HI

vor (z.B.  $n > 500$ : Fortier und Smith 2008,  $n=120$ : Brehm 2008,  $n = 98$ : Burk und Brehm 2011,  $n = 105$ : Godwin et al. 2011). Insbesondere die Untersuchungsergebnisse nach Behandlung einer Population von Rennpferden in Großbritannien wurden in den letzten Jahren wiederholt ausgewertet und mit z.T. abweichenden Werten publiziert, so dass von Überschneidungen hinsichtlich der Patientenzahlen auszugehen ist (Fortier und Smith 2008, Smith 2008b, Godwin et al. 2011). In einer frühen Auswertung betrug die Rezidivrate nach Applikation von MSC aus Knochenmark in Schäden der OBS bei 172 Rennpferden (Flach- und Hürdenrennen zusammengefasst) ein Jahr nach Behandlung 19% (24% bei Berücksichtigung beider Vordergliedmaßen). Für diejenigen Pferde, die wieder voll trainiert werden konnten, lag die Rezidivrate mehr als 1 Jahr nach Rückkehr in den Sport bei 27% (34% bei Berücksichtigung beider Vordergliedmaßen) (Smith 2008b). Über einen Beobachtungszeitraum von mehr als 2 Jahren vollständiger sportlicher Nutzung wird die Rezidivrate in dieser Population je nach Publikation mit insgesamt 27,4-32% angegeben (bis zu 41% bei Berücksichtigung der kontralateralen Gliedmaße) angegeben. Für Flachrennpferde betrug die Rezidivrate nach dieser Zeitspanne 50%, für Hürdenrennpferde 25,7% (Smith 2008b, Godwin et al. 2011). Dieses Ergebnis wird einer Rezidivrate nach herkömmlichen Behandlungsformen (kontrollierte Bewegung und/oder intraläsionale Behandlung mit Hyaluronsäure, Behandlung mit PSGAG) von 67% (Flachrennen) bzw. 56% (Hürdenrennen) gegenübergestellt, die sich ebenfalls auf einen Beobachtungszeitraum von mehr als 2 Jahren und eine vergleichbare Pferdepopulation bezieht (Dyson 2004). Für Hürdenrennpferde ergibt sich daraus gegenüber der Vergleichsuntersuchung eine signifikant geringere Rezidivrate, nicht jedoch für Flachrennpferde. Eine andere Kasuistik mit 109 stammzellbehandelten OBS von Pferden anderer Nutzungsrichtungen zeigte mehr als zwei Jahre nach Behandlung eine Rezidivrate von 13% (20% bei Berücksichtigung der kontralateralen Gliedmaße) (Smith 2008b), die einer Rezidivrate für diese Nutzungsrichtungen nach nicht-regenerativer Therapie von 23-43% gegenübersteht (Dyson 2004). Eine multizentrische Untersuchung an 61 Pferden, bei denen Schäden der OBS, der tiefen Beugesehne (TBS) sowie des FTs mit Stammzellen aus Knochenmark behandelt wurden, zeigte, dass bei 86% der Pferde nach einer durchschnittlichen Zeit von 21 Monaten die Gliedmaßenfunktion wiederhergestellt werden konnte (Ferris et al. 2009). Detailliertere Angaben liegen nicht vor. Zu einem ähnlichen Ergebnis kommt eine andere multizentrische Untersuchung an 98 Patienten, in der ebenfalls zumeist Erkrankungen der OBS und des FTs behandelt wurden (Burk und Brehm 2011): Für 58 Pferde liegen Langzeitergebnisse vor: von diesen Pferden wurden 84,5% nach mindestens 12 Monaten wieder im vollen Umfang und ohne Rezidiv genutzt. In dieser Untersuchung erfolgt eine wichtige Differenzierung der Behandlungsergebnisse in Bezug auf Erkrankungen der OBS und des FTs sowie seine einzelnen Abschnitte (Tab. 1). Auffallend ist bei der Auswertung der Fesselträgererkrankungen, dass die Autoren keine nennenswerten Unterschiede des Behandlungserfolges in Hinblick darauf, ob es sich um eine Vorder- oder Hintergliedmaße handelte, feststellten.

Behandlung natürlich entstandener Sehnenbeschäden  
Plazebo-kontrollierte Studien

Pacini et al. (2007) behandelten spontan aufgetretene Tendopathien der OBS bei 11 italienischen Rennpferden mit Stamm-

zellen aus Knochenmark. Neun dieser Pferde kehrten in den Rennsport zurück und blieben 2 Jahre lang rezidivfrei, die Anordnung der Faserbündel war sonographisch bei den Pferden in der Therapiegruppe besser als bei denen der Kontrollgruppe. Bei allen 15 Kontrollpferden kam es innerhalb von 4-12 Monaten zu einem Rezidiv. Smith et al. (2009) behandelten natürlich entstandene Läsionen der OBS bei 4 Rennpferden mit  $1 \times 10^7$  Stammzellen aus Knochenmark, suspendiert in Knochenmarküberstand und bei 4 Kontrollpferden mit Kochsalzlösung. Nach einem Beobachtungszeitraum von 6 Monaten wurden alle Pferde eingeschläfert. Es zeigten sich bei den mit Stammzellen behandelten Sehnen im Vergleich zu den mit Kochsalzlösung behandelten Sehnen u.a. eine höhere Elastizität, ein kleinerer Querschnitt (geringere Schwellung) und bessere histologische Parameter (Score).

*Kernhaltige Zellen (ADNCs) und mesenchymale stromale Zellen (AT-MSCs) aus Fettgewebe*

Behandlung experimentell erzeugter Sehnenbeschäden:  
Plazebo-ontrrollierte Studien

In einer kontrollierten Studie an 8 Versuchspferden wurde mittels Kollagenase eine Tendinitis der OBS einer Vordergliedmaße erzeugt (Nixon et al. 2008). Vier dieser Pferde wurden intraläsional mit aus Fettgewebe gewonnenen kernhaltigen Zellen behandelt. Nach 6 Wochen wurden die Pferde eingeschläfert. Mittels herkömmlichem Ultraschall ließ sich kein Unterschied zwischen den mit Zellen bzw. mit Plazebo behandelten Sehnen nachweisen. Histologisch lagen bei den mit Zellen behandelten Sehnen jedoch eine verbesserte Architektur der Sehnenfasern, eine Reduktion der Entzündungszellen und des Gehalts an Kollagen Typ III vor. Zudem waren histologisch die Dichte der Sehnenfasern und ihre Parallelität verbessert. Die Genexpression von COMP war nach Behandlung mit kernhaltigen Zellen im Vergleich zur Plazebobehandlung signifikant erhöht, die Genexpression von Kollagen Typ I und III war allerdings bei beiden Gruppen ähnlich. Zusammenfassend waren biochemische und molekulare Unterschiede zwischen Behandlungsgruppen weniger deutlich ausgeprägt, aber die Sehnenarchitektur war bei den Sehnen, die mit dem Zellsubstrat behandelt worden waren, deutlich hochwertiger. Eine Aussage über die langfristige Heilung und die Rezidivrate war nicht möglich war.

In einer weiteren Untersuchung an 8 Versuchspferden (Kollagenase-Modell) wurde jeweils eine OBS der Vorderhand mit 30 Tage nach Induktion des Schadens intraläsional mit kultivierten AT-MSCs, die in autologem Serum resuspendiert wurden, bzw. mit einem Plazebo behandelt (intraindividuelle Kontrolle). Nach Aufteilung in 2 Gruppen wurden bei 4 Pferden 60 Tage nach Induktion des Schadens Sehnenbiopate gewonnen, bei 4 Pferden erfolgte die Biopsie 60 und 150 Tage nach Induktion. Klinische und ultrasonographische Untersuchungsbefunde unterschieden sich zwischen der zell- und plazebobehandelten Seite nicht. Die feingewebliche Untersuchung zeigte jedoch in den Biopaten der zellbehandelten Sehnen zusammenfassend u.a. eine verbesserte Anordnung der Sehnenfasern, ein reduziertes Infiltrat mit Entzündungszellen, eine erhöhte Expression von Kollagen Typ I mit einem erhöhten Kollagen I/III Verhältnis. Die vorhandenen Entzündungszellen waren vermehrt perivaskulär angeordnet und die Neovaskularisation war verstärkt (Carvalho et al. 2011).

Behandlung natürlich entstandener Sehnenläsionen: Erfolgskontrolle durch Ermittlung der Rennleistung bzw. der Rezidivrate

Über die Behandlung von Sehenschäden mit MSCs aus Fettgewebe liegt ein Erfahrungsbericht über ca. 1000 Pferde vor. Von diesen Pferden sollen 78% das Leistungsniveau, das vor der Erkrankung bestand, erreicht haben. Von den Rennpferden in dieser Fallsammlung nahmen 69% nach der Rekonvaleszenz an mindestens einem Rennen teil (Dahlgren 2009a). In einer klinischen Studie an 58 Pferden (zumeist Trabern) wurden 18 Pferde mit Schäden der OBS und 40 Pferde mit Erkrankungen des FTs mit MSCs aus Fettgewebe behandelt. Nach einem Jahr waren 85% der Pferde wieder im sportlichen Einsatz, die Rezidivrate betrug ohne Berücksichtigung von Sehenschäden an der kontralateralen Gliedmaße 12,1% (Leppänen et al. 2009a). Nach 18-24 Monaten verblieben noch 60% der Pferde im Sport, die Rezidivrate lag zu diesem Zeitpunkt bei 13%, die Durchschnittliche Zahl an Starts nach der Rekonvaleszenz betrug 12 (Leppänen et al. 2009b). In einer Studie an 16 Pferden, die mit einer Kombination aus expandierten allogenen AT-MSCs und aktiviertem PRP behandelt wurden, konnten 14 Tiere wieder ihrer ursprünglichen Verwendung zugeführt werden, die Beobachtungszeit betrug mindestens 6 Monate (Del Bue et al. 2008).

#### *Stammzellen aus Sehngewebe*

Behandlung experimentell erzeugter Sehnenläsionen: Plazebo-kontrollierte Studie

In einer Untersuchung an 8 Pferden wurden mittels Kollagenase erzeugte Läsionen der OBS mit autogenen Vorläuferzellen aus Sehngewebe des seitlichen Zehenstrecker (M. extensor digitalis lateralis) behandelt. Zwar ließ sich innerhalb von 21 Tagen eine ausreichende Anzahl von Zellen für die Behandlung aus dem Sehngewebe erzeugen, die biochemische und molekularbiologische Untersuchung lieferte allerdings keinen sicheren Anhaltspunkt für eine Überlegenheit der zellbasierten Therapie gegenüber dem Plazebo. Eine Funktionskontrolle erfolgte nicht (Durgam et al. 2009).

#### *Embryonale und embryonal-ähnliche Stammzellen (ESCs)*

Behandlung experimentell erzeugter Sehnenläsionen: Plazebo-kontrollierte Studie

In einer Untersuchung an 8 Vollblutstuten wurden Schäden der OBS (Kollagenase Modell) mit embryonal-ähnlichen Stammzellen einer kommerziell verfügbaren Zelllinie intraläsional behandelt und die Pferde nach 8 Wochen eingeschläfert (Watts et al. 2011). Es wurde kein Unterschied zur Plazebobehandlung hinsichtlich sehnenmatrixspezifischer Genexpression, Proteoglykan- und Kollagengehalt sowie DNA festgestellt. Die Sehnenarchitektur, das Ausmaß des Sehnen Schadens und die Ausrichtung der Faserbündel waren gegenüber der Plazebobehandlung allerdings signifikant verbessert. Die Beobachtungszeit in dieser Studie war relativ kurz, es erfolgte keine Überprüfung biomechanischer Kriterien und keine intraindividuelle Kontrolle. Als Grund für die relativ geringe Überlebensrate der Zellen wird die Tatsache vermutet, dass es sich um männliche ESCs handelte, die weiblichen Individuen

appliziert wurden. Im Gegensatz dazu wurde in einer anderen tiereperimentellen Untersuchung an 8 Vollblutwallachen mit mechanisch induzierten Tendopathien der OBS nachgewiesen, dass eine hohe Zahl von allogenen ESCs über bis zu 90 Tage im Bereich der Läsion überlebte und sogar Migrationsbewegungen der Zellen zu anderen Bereichen des Schadens erfolgten (Guest et al. 2010).

#### *Direkte Vergleichsuntersuchungen zur Wirkung von Stammzellen verschiedener Herkunft*

Aufgrund einer plazebokontrollierten Studie an Pferdesehnen (Kollagenase Modell) ergeben sich Hinweise darauf, dass kultivierte Stammzellen aus dem Knochenmark eine vergleichbare Wirkung auf die Sehnenregeneration haben wie nicht-kultivierte mononukleäre Zellen aus Knochenmark (BMMNCs) (Crovace et al. 2010). Direkte Vergleichsuntersuchungen der Wirkung von nicht-kultivierten und kultivierten Stammzellen aus Fettgewebe bzw. von Stammzellen aus Fettgewebe und Stammzellen aus Knochenmark auf die Sehnenheilung liegen nach Kenntnis der Autoren nicht vor. Eine Vergleichsuntersuchung zwischen ESCs und MSCs zeigte, dass ESCs hinsichtlich ihrer Überlebensrate und ihres Migrationsverhaltens im Sehnen Schaden gegenüber MSCs überlegen sind (Guest et al. 2010).

#### *Potentielle Nebenwirkungen nach der Anwendung von Stammzellen*

Nach Behandlung von ca. 700 Pferden wurden nach Injektion von autologen Stammzellen aus Knochenmark in einem Beobachtungszeitraum von ca. 5 Jahren mit Ausnahme von sonographisch nachweisbaren Stichkanälen keine unerwünschten Effekte, wie z.B. Tumorwachstum, beobachtet (Smith et al. 2003, Fortier und Smith 2008, Godwin et al. 2011). Es wurde lediglich bei einem Pferd eine subkutane Mineralisierung festgestellt, die sich jedoch nicht bis in die Sehne erstreckte (Smith 2008b). Ungefähr 6% der behandelten Pferde zeigten in einer anderen Untersuchung eine transiente Schwellung im Injektionsbereich, die ohne Auswirkung auf den Heilungserfolg blieb (Burk und Brehm 2011). Die Komplikationsrate nach Anwendung von Stammzellen aus Fettgewebe liegt nach Angaben eines kommerziellen Anbieters bei 0,43%. Es wird darauf verwiesen, dass die meisten Komplikationen harmloser und vorübergehender Natur gewesen seien (Dahlgren 2009b). Nach Behandlung mit allogenen AT-MSCs beschreiben andere Autoren ein geringgradiges lokales Ödem und phasenweise eine Zunahme der Schmerzhaftigkeit am 2. Tag nach Injektion bei 50% der Tiere (Del Bue et al. 2008). Auch nach Anwendung allogener MSCs aus Knochenmark (Guest et al. 2008: 2 Pferde) und ESCs (Guest et al. 2010: 8 Pferde, Beobachtungszeit 12 Wochen; Watts et al. 2011: 7 Pferde, Beobachtungszeit 8 Wochen) wurden bisher weder immunologische Komplikationen noch ein Tumorwachstum beschrieben. Adulte MSCs aus Knochenmark haben zwar einerseits eine vorteilhafte immunsuppressive Wirkung, aber das theoretische Potential allogener Zellen, unerwünschte Immunreaktionen auszulösen, ist noch nicht vollständig geklärt und wird kontrovers diskutiert (Fibbe 2007, Koch et al. 2008, Bernardo et al. 2009, Paris und Stout 2010). So wurde vermutet, dass ein spontanes Absterben größerer Zellmengen nach Applikation die Heilung hemmen oder sogar eine Entzündungsreaktion hervorrufen

könnte (Koch et al. 2008). Die potentielle Übertragung von bakteriellen Infektionen durch Stammzellen wird für die Verwendung von Grundgewebe der Nabelschnur (Wharton-Sulze) diskutiert (Ribitsch et al. 2009).

Je nach Applikationstechnik (aufgehobener Fuß, stehende Gliedmaße; transversale/longitudinale Punktion der Sehne) sind Stichkanäle in unterschiedlichem Maße langfristig ultrasonographisch nachweisbar (Smith 2008a, Fortier und Smith 2008). In einer Untersuchung mit ESCs waren Stichkanäle bei allen Kontrolltieren, jedoch nur bei 2/4 behandelten Tieren nachweisbar (Watts et al. 2011)

#### *Interaktion zwischen mesenchymalen Stammzellen und Medikamenten*

Zur Wechselwirkungen zwischen Stammzellen und anderen Medikamenten sind für lebende Pferde in der Literatur wenige Daten verfügbar. Da die meisten equinen Patienten mit Sehnen- und Bandläsionen im Rahmen der akuten Entzündungsphase mit nicht steroidal antiinflammatorischen Medikamenten behandelt werden, wurde die Wechselwirkung von Flunixin, Phenylbutazon und Meloxicam mit mesenchymalen Stammzellen in vitro untersucht (Arnhold et al. 2010). In den üblicherweise therapeutisch eingesetzten Konzentrationen konnte ausschließlich Flunixin eine Verminderung der Proliferationsrate der Stammzellen induzieren, so dass eine Vorbehandlung mit Flunixin eher ungeeignet erscheint.

## **Behandlung mit Substraten aus Blut**

### *Autologes Vollblut*

Publizierte Studien zur Anwendung von autologem Vollblut bei Sehnen- und Bandschäden von Pferden liegen nach unserer Kenntnis nicht vor.

### *Thrombozytenreiches Plasma*

Behandlung experimentell erzeugter Sehnenschäden: Placebo-kontrollierte Studie

Eine kontrollierte tierexperimentelle Untersuchung an lebenden Pferden, bei denen chirurgisch Sehnendefekte der OBS erzeugt worden waren, zeigte gegenüber der Kontrollgruppe, dass die mit PRP behandelten Sehnen 4 Monate nach Behandlung, eine bessere Ausrichtung der Kollagenfasern, Anzeichen einer höheren metabolischen Aktivität und bemerkenswerterweise ein höheres Elastizitätsmodul sowie eine höhere mechanische Widerstandskraft aufwiesen (Bosch et al. 2010).

*Behandlung natürlich entstandener Sehnen- u. Bandschäden: Erfolgskontrolle durch Ermittlung der Rennleistung bzw. Rekonvaleszenzzeit*

Zur Anwendung des PRP bei spontan entstandenen Schäden der OBS und der TBS des Pferdes fehlen derzeit nach unserer Kenntnis kontrollierte Studien. Es ist allerdings eine randomisierte klinische Studie an 9 Trabrennpferden verfügbar, bei denen spontan aufgetretene einseitige Läsionen des Fesselträgerkörpers mit PRP behandelt wurden (Waselau et al.

2008). Die Pferde erhielten 14 Tage Boxenruhe und wurden danach einem kontrollierten Bewegungsprogramm unterzogen. Als Kontrollgruppe dienten Traber mit unbekanntem orthopädischem Gesundheitsstatus, die unter Zuhilfenahme einer Datenbank auf Grundlage von Alter, Geschlecht und Rennleistung den Pferden der Prüfgruppe zugeordnet wurden. Alle 9 erkrankten Pferde wurden wieder erfolgreich im Trabrennsport eingesetzt und nahmen mindestens 2 Jahre an Rennen teil. Die Zeitspanne bis zur Rückkehr betrug durchschnittlich 8 Monate (26-68 Wochen). Im Vergleich zu den Kontrollpferden gewannen die Probanden signifikant geringere Preisgelder pro Start im ersten Jahr nach der Rehabilitation und wiesen im dritten Jahr nach der Rückkehr in den Sport signifikant weniger Starts auf. Allerdings bleibt der Einfluss des kontrollierten Bewegungsprogramms unbekannt, da eine Kontrollgruppe bestehend aus Pferden mit unbehandelten Fesselträgerkörperschaden fehlt.

In einer Fallsammlung mit 5 Pferden mit Erkrankungen der oberflächlichen Beugesehne und des Fesselträgers konnten alle Pferde nach dreimaliger intraläsionaler Injektionsbehandlung mit PRP nach 4,5 Monaten (OBS), 2 Monaten (FT Ursprung vorn) und 6 Monaten (FT hinten) erfolgreich und ohne Rezidiv auf ihrem ursprünglichen Leistungsniveau genutzt werden (Carmona Ramirez 2006, Argüelles et al. 2008). Eine vergleichende Feldstudie zum klinischen Effekt nach Behandlung von Fesselträgerläsionen mit verschiedenen PRP Formulierungen und ACell® (Lutz et al. 2009) zeigte für PRP eine kürzere Rekonvaleszenzzeit bei einer geringeren Rate von Pferden, die wieder ihr ursprüngliches Leistungsniveau erreichten (s.u.; Tab. 1). In einer aktuellen Untersuchung wurden bei 11 Pferden ausschließlich Läsionen der Fesselträgerschenkel intraläsional behandelt. Während zwar bei 10 Pferden die Läsionen ultrasonographisch nicht mehr nachweisbar waren, erreichten lediglich 5 Pferde nach 1-3 Jahren ihr ursprüngliches Leistungsniveau (Castelijns et al. 2011).

### *Autologes konditioniertes Plasma (ACP)*

Zur Anwendung von ACP bei Sehnen- und Bänderkrankungen von Pferden liegen anekdotenhafte Erfahrungsberichte bzw. Fallsammlungen vor (Jonita und Brehm 2008, Rindermann et al. 2010). In einer Untersuchung an 7 Pferden verschiedener Nutzungsrichtungen wurden zumeist Läsionen der oberflächlichen Beugesehne einmalig mit einer Menge von 2-4 ml ACP intraläsional behandelt. Alle Pferde wurden wieder in vollem Umfang genutzt oder waren im Training und keines entwickelte (auf Grundlage von Befragungen) nach einer Zeit von 10-13 Monaten ein Rezidiv (Rindermann et al. 2010). Kontrollierte Studien fehlen nach unserem Kenntnisstand bislang.

### *Autologes konditioniertes Serum (ACS)*

Das Substrat wird u.a. aufgrund der Ergebnisse einer tierexperimentellen Untersuchung an Ratten (Majewski et al. 2009) zur intraläsionalen Behandlung von Tendopathien bei Pferden eingesetzt. Es liegen dazu bislang lediglich Erfahrungsberichte zu unkontrollierten Behandlungen vor. Unerwünschte Reaktionen wurden dabei nicht beobachtet (Weinberger 2008, Jonita und Brehm 2008, Textor 2011). Eine systematische Überprüfung des Effektes an natürlich vorkommenden Tendopathien des Pferdes steht noch aus.



## Behandlung mit Kombinationen aus Zellsubstraten und Blutprodukten

### *Kombination von BMMNCs und PRP*

Zur Behandlung natürlich entstandener chronischer (2-12 Monate) Erkrankungen der OBS (n=4) und des FTs (n=13) mit nicht-kultivierten kernhaltigen Zellen aus Knochenmark (BMMNCs) und PRP liegt eine Fallserie an Sportpferden vor, die 2-12 Monate nach intraläsionaler Behandlung wieder auf ihrem ursprünglichen Leistungsniveau eingesetzt werden konnten (Torricelli et al. 2011). Auffallend war in dieser Untersuchung, dass eine positive Korrelation der Heilungsdauer mit der Thrombozytenkonzentration im PRP vorlag: Ein signifikant schnellerer Wiedereinsatz im Sport wurde nach  $\bar{\varnothing} 2,8 \pm 0,4$  Mo. erzielt, wenn mehr als  $750 \times 10^3 / \mu\text{l}$  Thrombozyten enthalten waren. Bei niedrigeren Konzentrationen wurde eine Zeitspanne von  $\bar{\varnothing} 7,9 \pm 0,4$  Mo. festgestellt. Es konnte allerdings keine positive Korrelation zwischen dem Gehalt an Wachstumsfaktoren und dem klinischen Erfolg (Dauer bis zum Wiedereinsatz) festgestellt werden. Kontrollierte Untersuchungen zu dieser Kombinationsbehandlung fehlen nach unserer Kenntnis bislang.

### *Kombination von AT-MSCs und Thrombozytenlysat*

In einer Untersuchung zur Kombinationsbehandlung mit allo-genen MSCs aus Fettgewebe und aktiviertem PRP (Thrombozytenlysat) konnten 14 von 16 Pferden mit Sehnenenerkrankungen nach intraläsionaler Injektion wieder genutzt werden (Del Bue et al. 2008). Detailliertere Angaben und kontrollierte Untersuchungen fehlen bislang.

## Behandlung mit Gerüstsubstanzen

Behandlung natürlich entstandener Sehnen- u. Bandschäden  
Zum Einsatz von Gerüstsubstanzen bei equinen Sehnen- und Bandschäden liegen bislang nur Erfahrungsberichte und keine kontrollierten klinischen Studien vor (Badylak et al. 2004, Koch et al. 2009, Lutz et al. 2010). In einer Untersuchung wurden ca. 86% von 107 Sportpferden nach Behandlung von Sehnen- und Fesselträgerschäden mit einer kommerziell erhältlichen Gerüstsubstanz, die aus Harnblasen von Schweinen hergestellt wird (urinary bladder matrix, UBM), nach 12 Monaten wieder auf ihrem ursprünglichen Leistungsniveau eingesetzt (Mitchell 2006). In einer vergleichenden Feldstudie wurden 75 Pferde mit Erkrankungen des FTs mit PRP behandelt und 34 Patienten gegenübergestellt, deren FT mit ACell® behandelt wurde (Lutz et al. 2010). Von den mit PRP behandelten Pferden erreichten 42% bei einer durchschnittlichen Rekonvaleszenzzeit von 29 Wochen ihr ursprüngliches Leistungsniveau. Bei den mit ACell® behandelten Pferden lag der Prozentsatz bei 61%, die Zeitdauer bis zum Erreichen der vollen Belastbarkeit war mit 42 Wochen allerdings deutlich länger. In dieser Untersuchung wurden verschiedene PRP Zubereitungen verwendet, eine Kontrollgruppe mit unbehandelten Patienten wurde nicht untersucht. Nach Injektion von UBM entstehen vielfach starke Entzündungsreaktion mit Schmerzhaftigkeit und Ödemen, die z.T. schwer beherrschbar ist (Dahlgren 2009b).

## Behandlung mit einzelnen Wachstumsfaktoren und Getherapie

Behandlung experimentell erzeugter Sehnenschäden: Placebo-kontrollierte Studien

Die meisten Untersuchungen liegen zur Anwendung einzelner Wachstumsfaktoren liegen für den insulin-like growth factor-1 (IGF-1) vor. In einer kontrollierten Studie an 10 Pferden, bei denen mit Hilfe von Kollagenase Sehnendefekte erzeugt und danach mit IGF-1 behandelt wurden, zeigte sich eine geringere Schwellung der mit IGF-1 behandelten Sehnen. Zudem waren die mit IGF-1 behandelten Läsionen nach 3-4 Wochen sonographisch kleiner als diejenigen in der Kontrollgruppe. Die Zellproliferation und der Kollagengehalt waren gegenüber der Kontrollgruppe erhöht (Dahlgren et al. 2002). In einer anderen placebokontrollierten Studie an Pferden wurde der Effekt von gentechnisch veränderten Stammzellen, die IGF-1 exprimieren, mit dem von nicht gentechnisch veränderten Stammzellen aus Knochenmark auf kollagenaseinduzierte Sehnendefekte verglichen (Schnabel et al. 2009). Dabei zeigte sich, dass die Sehnen nach Behandlung mit beiden Stammzellpräparationen einen verbesserten Wert im histologischen Score gegenüber den placebobehandelten Sehnen aufwiesen. Die biomechanischen Eigenschaften der mit Stammzellen behandelten Sehnen wies einen Trend zur Überlegenheit durch verstärkte Zellproliferation und einen erhöhten Kollagengehalt gegenüber placebobehandelten Sehnen auf. Der Zugewinn durch die Expression von IGF-1 durch die Stammzellen war jedoch minimal (Schnabel et al. 2009), so dass das Verfahren hinsichtlich seiner Effektivität und seiner biologischen Sicherheit nicht praxisreif ist (Taylor et al. 2007).

### *Behandlung natürlich entstandener Sehnen- und Bandschäden*

Die Anwendung einzelner rekombinant hergestellter Wachstumsfaktoren bei natürlich erkrankten Pferden hat bislang noch keine weite Verbreitung gefunden, nicht zuletzt deshalb, weil aufgereinigte Biofaktoren nur eingeschränkt für den klinischen Einsatz am Pferd verfügbar sind. Die intraläsionale Applikation von IGF-1 wird z.B. bei Rennpferden in Verbindung mit einer Durchtrennung des Unterstützungsbandes der OBS durchgeführt, um Rezidive zu vermeiden. Die Ergebnisse sollen nach Erfahrungsberichten vergleichbar mit denen nach konservativer Therapie bzw. intraläsionalen Injektionen von Betaaminopropionitrilfumarat (BAPN), polysulfatierten Glykosaminoglykanen (PSGAG) oder Hyaluronsäure sein (Fortier und Smith 2008). In einer Fallsammlung wurde bei 40 Galopprennpferden die oberflächliche Beugesehne intraläsional 4-5 x mit IGF-1 behandelt, 26 Pferde wurden zusätzlich einer Desmotomie des Unterstützungsbandes der oberflächlichen Beugesehne unterzogen. Lediglich 62% aller Pferde kehrten in den Rennsport zurück. Für 28 Pferde lagen Langzeitergebnisse vor. Bei ihnen lag die Rezidivrate einschließlich der Pferde, die eine Tendopathie an der kontralateralen Gliedmaße entwickelten, bei 46%. (Witte et al. 2011)

Eine weiterer Wachstumsfaktor, zu dem Informationen über die klinische Anwendung vorliegen, ist der transforming growth factor- $\alpha$ 1 (TGF- $\alpha$ 1). Sein Effekt wurde in einer Studie prospektiv an 10 Pferden mit Erkrankungen der OBS und an

einem Pferd mit Erkrankung des FTs untersucht. Zwar wurden alle Pferde danach wieder auf ihrem ursprünglichen Leistungsniveau eingesetzt, allerdings kam es in 40% der Fälle zu einer Erkrankung der OBS der Gegenseite, und 60% der Pferde hatten eine anhaltende Schwellung der behandelten Sehne (Bathe 2002).

## Diskussion und zusammenfassende, kritische Betrachtung

### *Biologische Sicherheit, Nebenwirkungen*

Die biologische Sicherheit regenerativer Therapieformen scheint nach bisherigen Untersuchungen an lebenden Pferden zumeist hoch (Godwin et al. 2011). Wenngleich auch für die Verwendung allogener MSCs aus Knochenmark (Guest et al. 2008) und Fettgewebe (Del Bue et al. 2008) sowie allogener embryonaler und embryonal-ähnlicher Stammzellen (Guest et al. 2010, Watts et al. 2011) erste Untersuchungen an lebenden Pferden keine Hinweise auf immunologische bzw. tumoröse Komplikationen lieferten, liegen zur Verwendung allogener Zellen ebenso wie für die Gentherapie (Schnabel et al. 2009, Taylor et al. 2007) noch keine Langzeitergebnisse an einer größeren Anzahl von Patienten vor. Ein möglicherweise erhöhtes Risiko bakterieller Kontaminationen von Zellen aus Nabelschnurblut (Ribitsch et al. 2009) könnte bei Verwendung allogener Zellen zusätzlich eine forensische Relevanz besitzen.

Geringgradige, lokale und beherrschbare Entzündungsreaktionen werden in geringem Umfang nach Applikation von MSCs beobachtet (Dahlgren 2009b, Burk und Brehm 2011) und können – möglicherweise in Abhängigkeit vom Leukozytengehalt – auch bei der Anwendung von Blutprodukten auftreten. So kann es z.B. nach eigenen Beobachtungen im Einzelfall nach der Behandlung mit ACP zur Entstehung von Unterhautödemen an der behandelten Gliedmaße kommen (Geburek und Stadler 2011).

Nach der Anwendung der Gerüstsubstanz UBM sind die Reaktionen offenbar besonders ausgeprägt und fallen negativ ins Gewicht (Dahlgren 2009b). Die Bedeutung von Stichkanälen, die vielfach auch langfristig sonographisch nachweisbar sind, auf den Heilungsverlauf, insbesondere wenn eine transversale Punktion an der stehenden Gliedmaße erfolgte, ist unklar. Eine Schwächung der Sehne ist vorstellbar, ebenso das Austreten des applizierten Substrats aus der Sehne durch Rückfluss. Andererseits ermöglicht diese Injektionstechnik eine sehr präzise Applikation des Substrats in eine Kernläsion und erleichtert eventuell eine Migration von ortsgelassenen Vorläuferzellen aus dem Peritendineum in den Sehnen Schaden nach dem postulierten Prinzip des minimalinvasiven „Sehnensplittings“ (Dowling et al. 2000). Die Entnahme von Feinnadelbiopsien an der aufgehobenen Gliedmaße im Faserverlauf der Sehne hat klinisch keine nachteiligen Effekte auf die Heilung gezeigt (Wagels et al. 2001, Buck et al. 2002).

### *Einfluss des Pferdealters, der Nutzungsrichtung und der behandelten Sehnenstruktur*

Das Pferdealter, die Nutzungsrichtung und somit vielfach der Pferdetyp haben einen Einfluss auf die Entstehung von Sehnen-

und Bandschäden (Kasashima et al. 2004) als auch auf deren Heilung (Dowling et al. 2000, Thorpe et al. 2010, Dyson 2004, Smith 2008b, Burk und Brehm 2011). So zeigte sich bei Flachrennpferden nach Behandlung mit kultivierten MSCs aus Knochenmark tendenziell eine deutlich höhere Rezidivrate als bei Hindernisrennpferden, wenngleich die Zahl behandelter Flachrennpferde deutlich geringer war (Godwin et al. 2011). Vielfach bleiben die o.g. Einflüsse jedoch unberücksichtigt (Del Bue et al. 2008, Ferris et al. 2009), so dass dadurch die Aussagekraft der Untersuchung herabgesetzt wird.

Regenerative Therapieansätze kamen in den vorgestellten Untersuchungen vorwiegend an der OBS und am FT, zu einem geringeren Anteil am Unterstützungsband der TBS und an der TBS zum Einsatz. In vielen Untersuchungen wurden die Ergebnisse in Bezug auf alle untersuchten Strukturen zusammengefasst, um kleine Gruppengrößen zu vermeiden (Tab. 1). Weitgehend unberücksichtigt bleiben bei dieser Vorgehensweise die strukturellen und funktionell-biomechanischen Unterschiede der verschiedenen Sehnen und Bänder (Kasashima et al. 2004, Birch et al. 2008, Souza et al. 2010), deren Erkrankungen mit unterschiedlichen Prognosen auch nach anderen Behandlungsformen behaftet sind (Dyson 1994, Dyson 2004, Rijkenhuizen et al. 2007). Bislang werden nur in einzelnen Untersuchungen die verschiedenen Abschnitte des Fesselträgers gesondert berücksichtigt (Mountford et al. 2006, Waselau et al. 2008, Castelijn et al. 2011). Unterschiedliche Heilungsverläufe von Sehnenenerkrankungen an der Vorder- oder Hintergliedmaße sind insbesondere für den Fesselträger zu erwarten (Personett 1983, Dyson 1994, van den Belt et al. 1994, Dyson 2000).

### *Einfluss des Alters der Läsion*

Die Sehnenheilung verläuft in verschiedenen Phasen und es gibt Hinweise darauf, dass einerseits der Zeitpunkt einer bestimmten Behandlung eine Auswirkung auf den Erfolg hat und andererseits nicht alle Therapieansätze in einer bestimmten Phase der Sehnenheilung gleich effektiv zu sein scheinen (Geburek und Stadler 2011). Unterschiede des Behandlungserfolgs bei akuten bzw. chronischen Tendopathien mit MSCs werden kontrovers diskutiert (Smith und Webbon 2005, Fortier und Smith 2008, Burk und Brehm 2011, Godwin et al. 2011). In einer großen Fallserie unterschied sich die durchschnittliche Dauer zwischen Entstehung des Sehnen Schadens und Behandlung mit MSCs aus Knochenmark zwischen Pferden ohne Rezidiv (46 Tage) und mit Rezidiv (53,6 Tage) allerdings nur leicht und nicht signifikant (Godwin et al. 2011). In einem Fallbericht zur Behandlung eines chronischen FT-Schenkel Schadens mit MSCs aus Knochenmark zeigte nach erfolgreicher Rückkehr des Pferdes zur ursprünglichen Nutzung sogar noch eine Verbesserung histologischer Parameter gegenüber Kontrollgewebe (Mountford et al. 2006). Auch nach PRP Injektionen wird nicht nur in der akuten Entzündungsphase (Bosch et al. 2010), sondern auch bei chronischen Tendopathien z.T. ein positiver Effekt beschrieben (Waselau et al. 2008, Argüelles et al. 2008, Torricelli et al. 2011).

In praxi wird das Alter von natürlich entstandenen Läsionen meist nach vorberichtlichen Angaben ermittelt und danach zwischen akuten chronischen Sehnen- bzw. Bänderkrankungen unterschieden (Burk und Brehm 2011). Vielfach handelt es sich allerdings um Rezidive von subklinischen Schäden, so

das das Alter der Läsion oft höher ist, als die vorberichtlich genannte Erkrankungsdauer. Eine möglichst zeitnahe Behandlung nach Diagnosestellung oder eine aufwendigere sonographische Gewebecharakterisierung mittels UTC (ultrasonographic tissue characterization) erscheint vor diesem Hintergrund sinnvoll (*van Schie et al. 2009*). Die Datenlage erlaubt derzeit noch keine abschließende Aussage darüber, welcher regenerative Therapieansatz in welcher Phase der Sehnenheilung, bei welcher Sehnen- oder Bandstruktur optimal ist (*Koch et al. 2009*).

#### *Behandlungserfolg: Nutzbarkeit, Rezidivrate*

Eine mögliche Überlegenheit regenerativer Therapeutika gegenüber anderen Behandlungsformen bei natürlich erkrankten lebenden Pferden ist trotz zahlreicher Voruntersuchungen und Kasuistiken (*Smith 2008b, Burk und Brehm 2010, Godwin et al. 2011*) wissenschaftlich hochwertig nur dann zu erfassen, wenn vergleichbare Kontrolltiere randomisiert behandelt werden. Die Zahl derartiger Untersuchungen ist allerdings gering (*Pacini et al. 2007, Smith et al. 2009*). Die Verwendung von Placebos an natürlich entstandenen Tendopathien ist gegenüber Tierbesitzern in praxi oft schwer vermittelbar. Placebokontrollierte Untersuchungen an natürlich entstandenen Sehnenläsionen führen theoretisch zu Ergebnissen höchster Evidenz, weisen allerdings meistens methodische Schwachpunkte auf (*Pacini et al. 2007, Smith et al. 2009*). In einer Untersuchung (*Pacini et al. 2007*) erfolgte die Behandlung von OBS Schäden weder in der Therapie- noch in der Kontrollgruppe randomisiert, sondern wurde nach Präferenz der Besitzer durchgeführt. Die Anzahl der injizierten Stammzellen variierte zwischen  $0,6 \times 10^6$  und  $31,2 \times 10^6$ , es erfolgte lediglich eine sonographische, keine feingewebliche Kontrolle und die Altersverteilung war in der Therapie- und Behandlungsgruppe unterschiedlich. Zusätzlich wurden die Stammzellen in autologem Serum resuspendiert, so dass unklar bleibt, welches Substrat zur beobachteten Wirkung beigetragen hat.

Die placebokontrollierte Untersuchung zur Wirkung von MSCs aus Knochenmark auf Schäden der OBS bei insgesamt 8 Pferden von *Smith et al. (2009)* ist einerseits nur bedingt aussagekräftig, weil es sich um eine geringe Anzahl von Pferden handelte, das Alter der Tiere unerwähnt blieb, das Ausmaß der Sehnenläsionen variierte und die Rezidivrate nach Belastung nicht berücksichtigt wurde. Andererseits basiert die Untersuchung jedoch auf einem Konzept, das z.B. bei Erhöhung der Fallzahl Ergebnisse hoher Evidenz erwarten lässt. Wenngleich klare Parameter für eine erfolgreiche Regeneration von Sehnenewebe noch nicht festgelegt wurden, lag hier zumindest eine Annäherung der biomechanischen und histologischen Eigenschaften sowie der Zusammensetzung der behandelten Sehnen an nicht erkranktes Sehnenewebe vor.

Der Behandlungserfolg in Bezug auf die Zeitdauer bis zum Wiedereinsatz im Sport und die Rezidivrate (*Rosenbrock et al. 2004b, Smith 2008b, Herthel 2001, Lutz et al. 2010, Burk und Brehm 2010, Godwin et al. 2011*) wird oft an den Behandlungsergebnissen anderer Autoren gemessen (*Dyson 2004, O'Meara et al. 2010*). Dabei werden methodische Unterschiede wie z.B. fehlende Randomisierung, fehlende Verblindung, Kombination mit anderen, z.B. chirurgischen

Maßnahmen (*Herthel 2001*), vielfach nicht berücksichtigt. Die Einbeziehung eines Schadens der kontralateralen OBS nach Behandlung der ipsilateralen OBS bei der Berechnung der Erfolgs- bzw. Rezidivrate wird uneinheitlich gehandhabt (*Dyson 2004, O'Meara et al. 2010*). Selten ist ein Vergleich zu einer Behandlung ohne Medikation, lediglich durch Boxenruhe und kontrollierte Bewegung möglich (*Tab. 1; Dyson 1991, Dyson 2004, Rijkenhuizen et al. 2007*). Als Mindeststandard zur Evaluation des Behandlungserfolges wird gefordert, dass mit regenerativen Therapeutika behandelte Pferde anders behandelten Pferden gleichen Alters und gleicher Nutzung gegenübergestellt, alle Fälle gleichartig ultrasonographisch nachkontrolliert und einem vergleichbaren kontrollierten Bewegungsregime unterzogen werden (*Fortier und Smith 2008*). Diese Kriterien werden oft nur ansatzweise oder gar nicht berücksichtigt. Somit ist z.B. die wissenschaftliche Bedeutung der Studien von *Rosenbrock et al. (2004a)* und *Rosenbrock (2004b)* zum Erfolg der Behandlung von FTU-Schäden mit Knochenmarksaspiraten fraglich. Bei Rennpferden zeigte sich zudem, dass nach Rekonvaleszenz von OBS Erkrankungen die Auswertung von mindestens 5 Rennen erforderlich ist, um hinsichtlich der Rennleistung Unterschiede zu nicht erkrankten Kontrollpferden herausarbeiten zu können (*O'Meara et al. 2010*).

Ein Vergleich der einzelnen regenerativen Therapeutika hinsichtlich der Erfolgs- bzw. Rezidivrate ist derzeit nicht möglich. Dagegen scheinen z.B. MSCs aus Knochenmark zur Behandlung von Schäden der OBS gegenüber kontrollierter Bewegung oder anderen Behandlungsformen (Hyaluronsäure, PSGAG: *Dyson 2004; IGF-I, Desmotomie des Unterstützungsbandes der OBS, Brennen (!): O'Meara et al. 2010*) überlegen zu sein (*Tab. 1; Smith 2008b, Burk und Brehm 2011, Godwin et al. 2011*).

Obwohl nur einzelne detaillierte und differenzierte Angaben zu Behandlungserfolgen von Erkrankungen des Fesselträgers in Bezug auf das Alter der Läsion, die erkrankte Gliedmaße und insbesondere die erkrankte Lokalisation (FT Ursprung, -Körper, -Ansatz) vorliegen (*Wasselau et al. 2008, Castelijns et al. 2011*), entsteht der Eindruck, dass die Behandlung mit MSCs aus Knochenmark (*Burk und Brehm 2011*) und nativen Knochenmarksaspiraten (*Herthel 2001, Herthel 2003, Rosenbrock et al. 2004b*) gegenüber einer Behandlung durch Boxenruhe mit kontrollierter Bewegung (*Rijkenhuizen et al. 2007*) und auch gegenüber einer Behandlung mit UBM und PRP überlegen ist (*Lutz et al. 2011, Castelijns et al. 2011*). Da jedoch für die verschiedenen regenerativen Therapeutika und die einzelnen anatomischen Abschnitte des Fesselträgers noch zu wenig detaillierte wissenschaftliche Daten verfügbar sind, erscheint eine weitergehende Bewertung verfrüht. Studien, die nicht zwischen Behandlungen des Fesselträgers und der OBS unterscheiden (*Dahlgren 2009a, Leppänen et al. 2009a, Ferris et al. 2009*), zeigen nach Behandlung mit MSCs aus Knochenmark und Fettgewebe in Bezug auf die Gebrauchsfähigkeit (ca. 60-85%) und die Rezidivrate (ca. 12-13%) nach 12-24 Monaten z.T. ähnliche Ergebnisse (*Tab. 1*). Insgesamt wird die Vergleichbarkeit verschiedener Studien hinsichtlich der Rezidivrate dadurch erschwert, dass die Berechnung dieses Parameters z.T. unterschiedlich vorgenommen wird: z.B. „Anteil der Pferde mit Rezidiv an der Gruppe aller behandelten Pferde“ (*Leppänen et al. 2009a, Burk und Brehm 2011*) oder

„Anteil der Pferde mit Rezidiv an der Gruppe aller Pferde, die über einen definierten und kontrollierten Zeitraum sportlich genutzt wurden“ (Ferris et al. 2009, Godwin et al. 2011). Im letztgenannten Fall stellen sich die Rezidivraten vorteilhafter, d.h. geringer dar, da im ersten Fall z.B. auch Pferde, die bereits während es Antrainierens ausfielen, berücksichtigt werden.

#### *Behandlungserfolg: strukturelle und biomechanische Verbesserung*

Die Aussagekraft herkömmlicher Ultraschalluntersuchungen zur Überprüfung der Wirkung von Therapeutika auf die Sehnenstruktur ist begrenzt (van Schie et al. 2000, van Schie et al. 2009) und effektivere Verfahren wie z.B. Sehnenbiopsien einschließlich ultrastruktureller Untersuchungen (Wagels et al. 2001, Buck et al. 2001, Mountford et al. 2006, Barreira et al. 2008, Carvalho et al. 2011, Schramme et al. 2011), „ultrasonographic tissue characterization“, UTC (van Schie et al. 2009, Bosch et al. 2011) und MRT (Schramme et al. 2010) sind bislang nur eingeschränkt an natürlich erkrankten Patienten anwendbar bzw. verfügbar. Das Ausweichen auf tierexperimentelle Studien am Pferd (Dahlgren et al. 2002, Crovace et al. 2007, Nixon et al. 2008, Durgam et al. 2009, Schnabel et al. 2009, Guest et al. 2010, Bosch et al. 2010, Crovace et al. 2010, Watts et al. 2011, Carvalho et al. 2011) ermöglicht im Idealfall die Erzeugung einer reproduzierbaren und vergleichbaren Läsion, den Vergleich mit Kontrolltieren und eine ausführliche feingewebliche, biochemische und biomechanische Analyse der behandelten Sehnen und somit eine Aussage über die Effekte auf die Sehnenstruktur. Derartige Studien sind mit sehr hohen Kosten verbunden und erstrecken sich deshalb oft nur auf eine relativ kurze Beobachtungszeit zwischen 6 Wochen und 6 Monaten (Nixon et al. 2008, Guest et al. 2010, Schnabel et al. 2009, Watts et al. 2011, Bosch et al. 2010). Künstlich werden Sehnen-schäden beim Pferd z.B. durch die intratendinöse Injektion einer definierten Menge Kollagenase erzeugt (Pacini et al. 2007, Nixon et al. 2008, Schnabel et al. 2009, Watts et al. 2011, Carvalho et al. 2011 u.a.). Dabei entstehen Defekte, die nicht vorbehaltlos mit natürlich entstandenen Läsionen vergleichbar sind (van Schie et al. 2009). Zusätzlich muss die Tiergerechtigkeit bei diesem Verfahren in Frage gestellt werden, insbesondere weil die weniger schmerzhaft Erzeugung von Sehnen-schäden mit einer motorgetriebenen Fräse aus der Arthroskopie („burr“) möglich ist (Little und Schramme 2006, Guest et al. 2008, Schramme et al. 2009, Bosch et al. 2010, Guest et al. 2010, Schramme et al. 2011). Bei dieser Methode scheint neben der Verträglichkeit auch die Vergleichbarkeit der Schäden besser zu sein. Grundsätzlich muss bei Verwendung eines Krankheitsmodells damit gerechnet werden, dass die Ergebnisse nach Behandlung natürlich entstandener Läsionen schlechter ausfallen können, als dies aufgrund experimenteller Untersuchungen an der gleichen Sehne zu erwarten war (Beispiel Wachstumsfaktor IGF-1: Dahlgren et al. 2002, Witte et al. 2011).

Tierexperimentelle Untersuchungen sind in erster Linie geeignet, eine Aussage über die feingewebliche Struktur des Ersatzgewebes nach den verschiedenen Behandlungen zu treffen. So konnte gezeigt werden, dass die Sehnenarchitektur nach Behandlung mit kernhaltigen Zellen aus Fettgewebe (Nixon et

al. 2008), MSCs aus Knochenmark (Schnabel et al. 2009), frischen mononukleären Zellen aus Knochenmark (Crovace et al. 2010) und PRP (Bosch et al. 2010) im Vergleich zu einer Placebobehandlung verbessert wird. Eine Aussage über die Rezidivrate kann nach derartigen Untersuchungen aus methodischen Gründen allerdings nicht erfolgen.

Verschiedene Untersuchungen (keine direkte Vergleichsuntersuchung) liefern Hinweise darauf, dass die Sehnenarchitektur nach Applikation von embryonalen bzw. embryonal-ähnlichen Stammzellen (ESCs) (Guest et al. 2010, Watts et al. 2011) stärker verbessert wird als nach Injektion von mesenchymalen stromalen Zellen (MSCs) aus Knochenmark (Schnabel et al., 2009) oder kernhaltigen Zellen aus Fettgewebe (Nixon et al. 2008). Biomechanische Untersuchungen in vitro von behandeltem Sehngewebe wären für tierexperimentelle Untersuchungen an Pferden von großer Bedeutung, werden allerdings nur in Einzelfällen vorgenommen (Schnabel et al. 2009, Bosch et al., 2010), vermutlich weil die Untersuchungszeiträume vielfach zu kurz sind (Nixon et al. 2008, Watts et al. 2011). Es zeigte sich beispielsweise 24 Wochen nach Behandlung eine Überlegenheit von mit PRP behandelten Sehnen gegenüber dem Placebo (Bosch et al. 2010). Deshalb muss das Fehlen eines signifikanten Unterschieds einer Behandlung mit MSCs aus Knochenmark bzw. IGF-1 exprimierenden MSCs gegenüber der Placebobehandlung nach 8 Wochen (Schnabel et al. 2009) nicht zwingend bedeuten, dass diese Therapieform hinsichtlich der biomechanischen Belastbarkeit bei gleichlangem Beobachtungszeitraum der Behandlung mit PRP unterlegen ist.

Die Grenzen der Vergleichbarkeit verschiedener Studien untereinander sind zusammenfassend also auch bei Tierexperimenten in methodischen Varianten zu suchen. In diesem Zusammenhang ist nicht zuletzt von hoher Bedeutung, ob eine aussagekräftigere intraindividuelle (z.B. Bosch et al. 2010, Carvalho et al. 2011) oder eine weniger aussagekräftige interindividuelle Kontrolle (z.B. Nixon et al. 2008) gewählt wurde.

#### *Behandlungserfolg: Dauer des Heilungsprozesses*

Die Sehnen- und Bandheilung verläuft bei Pferden langsam (Dowling et al. 2000). Bislang konnte zwar noch nicht sicher belegt werden, dass Substrate mit regenerativem Potential die Sehnenheilung beschleunigen, aber verschiedene Untersuchungen geben Hinweise darauf, dass dies in begrenztem Maß der Fall sein könnte (Lutz et al. 2010, Torricelli et al. 2011). So wurde aus den Ergebnissen einer Kasuistik geschlossen, dass der Thrombozytengehalt im PRP, das in Kombination mit BMMNCs angewendet wurde, die Heilungsphase bis zum Wiedereinsatz im Sport verkürzt hat (Torricelli et al. 2011). Dieser Aspekt lässt PRP geeigneter als ACP erscheinen, wobei kein direkter Vergleich verfügbar ist und die Kontrolle durch unbehandelte Pferde fehlt.

In einer anderen Untersuchung konnte gezeigt werden, dass die Behandlung mit PRP zwar zu einem schnellen Wiedereinsatz führte, allerdings weniger Pferde ihr ursprüngliches Leistungsniveau erreichten als nach Behandlung mit UBM (Lutz et al. 2010; Tab. 1). Erfolgen allerdings Angaben von Zeitspannen bis zum Erreichen der vollen Leistung ohne die Angabe von Rezidivraten, bleibt unklar, ob wirklich eine nach-

haltige Beschleunigung der Heilung erfolgte (Künneke et al. 2008). Es sollte also zunächst eine Verbesserung der Sehnenstruktur angestrebt werden, auch wenn zusammenfassend nach Auswertung vorliegender Untersuchungen weiterhin eine relativ lange Rekonvaleszenzzeit in Kauf genommen werden muss (Godwin et al. 2011).

### Optimales Substrat

Mehrere Substrate mit regenerativem Potential erscheinen in Untersuchungen an lebenden Pferden vielversprechend, und es wird eine zunehmende Zahl tierexperimenteller Vergleichsuntersuchungen verfügbar (Crovace et al. 2010, Guest et al. 2010, Schnabel et al. 2009), wobei nur wenige direkte Vergleichsuntersuchungen zu natürlich entstandenen Sehnen- und Bänderkrankungen vorliegen (Lutz et al. 2010).

Bei unkontrollierten Untersuchungen zu Kombinationen von Blut- und Zellsubstraten (Del Bue et al. 2008, Torricelli et al. 2011, Carvalho et al. 2011) oder von MSCs und Knochenmarküberstand (Brehm und Burk 2011, Fortier und Smith 2008) bzw. bei einer Placebokontrolle mit autologem Serum (Pacini et al. 2007) bleibt der jeweilige Effekt der einzelnen Komponenten des injizierten Substrats bzw. der therapeutische Effekt des Placebos unklar. Die Kombination verschiedener Wachstumsfaktoren bzw. Zellen wie sie z.B. im PRP oder in zentrifugierten Knochenmarksaspiraten vorliegt, scheint jedoch grundsätzlich vorteilhafter zu sein als die Behandlung mit einzelnen rekombinant hergestellten Wachstumsfaktoren (Bathe 2002, Dahlgren et al. 2002, Witte et al. 2011), zumal diese z.T. eine kurze Halbwertszeit haben (Smith et al. 2006). Zusammenfassend ist noch unbekannt, welches Blut- oder Stammzellprodukt oder welche Kombination aus Zellen, Wachstumsfaktoren und Gerüstsubstanzen die Sehnenheilung am effektivsten verbessert (Koch et al. 2009). Vielfach beeinflussen im klinischen Alltag ökonomische Zwänge, die unterschiedliche Handhabbarkeit verschiedener „Kits“ und Unterschiede der Logistik bei der Herstellung der einzelnen Therapeutika die Entscheidung. So besteht bei Verwendung von nicht kultivierten mononukleären Zellen aus Knochenmark bzw. ACP gegenüber kultivierten MSCs bzw. PRP ein Vorteil in der einfacheren und schnelleren Handhabbarkeit (Crovace et al. 2010, Künneke et al. 2008). Demgemäß korreliert die Häufigkeit der Anwendung bestimmter Substrate in praxi nicht zwingend positiv mit deren Effektivität. Zwar zeigte sich im Vergleich der Wirkung von kultivierten MSCs aus Knochenmark und den einfacher herstellbaren BMMNCs auf die Sehnenheilung kein Unterschied (Crovace et al. 2010), in Bezug auf zellhaltige Substrate aus Fettgewebe ergeben sich hingegen Hinweise, dass kultivierte AT-MSCs (Carvalho et al. 2011) den nicht kultivierten ADNCs (Nixon et al. 2008) in Bezug auf die Begünstigung des Kollagen I/III Verhältnisses überlegen sind.

Entscheidende Bedeutung kommt einem Vergleich zwischen den Erfolgsraten nach Applikation von regenerativen Therapeutika und nach ausschließlich kontrollierter Bewegung zu, die nachgewiesenermaßen einen positiven Effekt hat (Gillis et al. 1997, Sawdon et al. 1996). So wird bei Erkrankungen der OBS auch nach ausschließlich kontrollierter Bewegung mit 59-71% (Gillis et al. 1997, Sawdon et al. 1996) eine relativ hohe Erfolgsrate angegeben, die allerdings mit einer eben-

falls hohen Rezidivrate von 54% einhergeht (Dyson 2004). Dem stehen Erfolgsraten von bis zu 84% (Burk und Brehm 2011) und Langzeit Rezidivraten von 27,4 % (Godwin et al. 2011) bis zu 41% (Smith 2008b) z.B. für die Behandlung mit kultivierten MSCs aus Knochenmark gegenüber. Vor dem Hintergrund, dass akute FT-Ursprungserkrankungen an der Vorderhand nach ausschließlicher Behandlung mit kontrollierter Bewegung mit einer guten Prognose (90%) behaftet sind (Personett et al. 1983, Dyson 2000), ist beispielsweise eine Gebrauchsfähigkeit von 67% der Pferde nach Behandlung von FTU-Erkrankungen mit BM-ACP ohne Angabe der Rezidivrate von fraglicher Bedeutung (Künneke et al. 2008).

In der vorliegenden Literaturübersicht konnte gezeigt werden, dass sich der Trend zu einer Überlegenheit von Substraten mit regenerativem Potential gegenüber anderen Behandlungsformen und natürlicher Heilung aufgrund einer zunehmenden Zahl an Untersuchungen an lebenden Pferden bestätigt, wenngleich noch unklar ist, welches Produkt bzw. welche Kombination von Substraten im Einzelfall am besten geeignet ist. Zellen aus Sehngewebe scheinen nach den vorliegenden Untersuchungen wenig geeignet (Durgam et al. 2009). Für MSCs bzw. kernhaltige Zellen aus Knochenmark und Fettgewebe stehen noch Vergleichsuntersuchungen und die Klärung der Fragen aus, ob eine Kultivierung erforderlich ist (Nixon et al. 2008, Crovace et al. 2010) und ob allogene MSCs in praxi geeignet sind. Jüngere Untersuchungen liefern Hinweise darauf, dass embryonale Stammzellen (ESCs) aufgrund ihrer nachgewiesenen Pluripotenz möglicherweise in Zukunft eine zunehmende Bedeutung gewinnen werden (Guest et al. 2010, Watts et al. 2011).

### Literatur

- Argüelles D., Carmona J. U., Climnet F., Munoz E. und Prades M. (2008) Autologous platelet concentrates as a treatment for musculoskeletal lesions in five horses. *Vet. Rec.* 162, 208-211
- Arnhold S., Müller M., Raabe O., Addicks K. und Wenisch S. (2010) Einfluß nichtsteroidaler Antiphlogistika auf equine mesenchymale Stammzellen in vitro. *Tierärztl. Prax.* 38(G), 37-46
- Badyal S. F. (2004) Extracellular matrix as a scaffold for tissue engineering in veterinary medicine: Applications in soft tissue healing. *Clin. Tech. Equine Pract.* 3, 173-181
- Barreira A. P. B., Alves A. L. G., Saito M. E., Amorim R. L., Kohayagawa A., Menarim B. C. und Mota L. S. (2008) Autologous Implant of Bone Marrow Mononuclear Cells as Treatment of Induced Equine Tendinitis. *Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.* 5, 46-54
- Bathe A. P. (2002) Tendon and ligament engineering-experiences with TGF- $\alpha$ . *Proceeding of the First World Orthopedic Veterinary Congress*, S. 46
- Birch H. L., Worboys S., Eissa S., Jackson B., Strassburg S. und Clegg P. D. (2008) Matrix metabolism rate differs in functionally distinct tendons. *Matrix Biol.* 27, 182-189
- Bosch G. (2009) Towards a staged evidence based approach for the treatment of tendon injuries in the horse. *PhD Diss. Med. Vet. Utrecht*
- Bosch G., van Weeren P. R., Barneveld A. und van Schie H. T. M. (2011) Computerised analysis of standardised ultrasonographic images to monitor the repair of surgically created core lesions in equine superficial digital flexor tendons after intratendinous platelet rich plasma or placebo. *Vet. J.* 187, 92-98
- Bosch G., van Schie H. T. M., de Groot M. W., Cadby J. A., van de Lest C. H. A., Barneveld A. und van Weeren P. R. (2010) Effects of Platelet-Rich Plasma on the Quality of Repair of Mechanically Induced Core Lesions in Equine Superficial Digital Flexor Tendons: A Placebo-Controlled Experimental Study. *J. Orthop. Res.* 28(2), 211-217

- Brehm W. (2008) Erfahrungen mit der Stammzell-Therapie von Sehnenläsionen beim Pferd. In: Vortragsband des BPT - Kongress 2008, Hannover, 13.-16. November, BPT Akademie GmbH, Frankfurt, 2008, S.20-26
- Buck C., Drommer W., Wagels R. und Stadler P. (2002) Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung von Sehnenbiopsaten gesunder Pferde und Patienten in unterschiedlichen Heilungsphasen einer Tendopathie. *Pferdeheilkunde* 18, 521-528
- Burk J. und Brehm W. (2011) Stammzellentherapie von Sehnenverletzungen – klinische Ergebnisse von 98 Fällen. *Pferdeheilkunde* 27, 153-161
- Carmona Ramirez J. U. (2006) Use of autologous platelet concentrates for the treatment of musculoskeletal injuries in the horse. PhD Diss. Med. Vet. Barcelona
- Carvalho A. D. M., Alves A. L. G., de Oliveira P. G. G., Alvarez L. E. C., Amorim R. L., Hussni C. A. und Deffune E. (2011) Use of Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells for Experimental Tendinitis Therapy in Equines. *J. Equine vet. Sci.* 21, 26-34
- Castelijns G., Crawford A., Schaffer J., Ortolano G. A., Beauregard T. und Smith R. K. W. (2011) Evaluation of a filter-prepared platelet concentrate for the treatment of suspensory branch injuries in horses. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* 5, 363-369
- Crovace A., Lacitignola L., De Siena R., Rossi G. und Francioso E. (2007) Cell therapy for tendon repair in horses: an experimental study. *Vet. Res. Commun.* 31, Suppl 1, 281-283
- Crovace A., Lacitignola L., Rossi G. und Francioso E. (2010) Histological and Immunohistochemical Evaluation of Autologous Cultured Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells and Bone Marrow Mononucleated Cells in Collagenase-Induced Tendinitis of Equine Superficial Digital Flexor Tendon. *Veterinary Medicine International. Vet. Med. Int.* Article ID 250978, doi:10.4061/2010/250978, <http://www.hindawi.com/journals/vmi/2010/250978/>
- Crowe O. M., Dyson S. J., Wright I. M., Schramme M. C. und Smith R. K. W. (2004) Treatment of chronic or recurrent proximal suspensory desmitis using radial pressure wave therapy in the horse. *Equine vet. J.* 36, 313-316
- Dahlgren L. A., van der Meulen M. C. H., Bertram J. E. A., Starrak G. S. und Nixon A. J. (2002) Insulin-like growth factor-I improves cellular and molecular aspects of healing in a collagenase-induced model of flexor tendinitis. *J. Orthop. Res.* 20, 910-919
- Dahlgren L. A. (2009a) Fat derived mesenchymal stem cells for equine tendon repair. *Regenerative Medicine* 4(6), Suppl. 2, S14
- Dahlgren L. A. (2009b) Management of Tendon Injuries. In: *Current Therapy in Equine Medicine*. Robinson N.E., Sprayberry K.A., (Hrsg.), Saunders, Elsevier, St. Louis, USA, 6. Auflage, 518-523
- Del Bue M., Riccò S., Ramoni R., Conti V., Gnudi G. und Grolli S. (2008) Equine adipose tissue derived mesenchymal stem cells and platelet concentrates: their association in vitro and in vivo. *Vet. Res. Commun.* 32, Suppl 1, S51-S55
- Dowling B. A., Dart A. J., Hodgson D. R. und Smith R. K. W. (2000) Superficial digital flexor tendonitis in the horse. *Equine vet. J.* 32, 369-378
- Durgam S. S., Stewart A. A., Caporali E. H., Karlin W. M. und Stewart M. C. (2009) Effect of tendon-derived progenitor cells on a collagenase-induced model of tendinitis in horses. *Regen. Med.* 4, Suppl. 2, S27
- Dyson S. (1994) Proximal suspensory desmitis in the hindlimb: 42 cases. *Br. vet. J.* 150, 279-291
- Dyson S. (2000) Proximal suspensory desmitis in the forelimb and hindlimb. *Proc. Am. Ass. Equine Practnrs.* 46, 137-142
- Dyson S. (2004) Medical management of superficial digital flexor tendonitis: a comparative study in 219 horses (1992-2000). *Equine vet. J.* 36, 415-419
- Dyson S. J. und Genovese R. L. (2003) The suspensory apparatus. In: *Diagnosis and Management of Lameness in Horses*. Ross M.W., Dyson S.J., (Hrsg.). Saunders, Philadelphia, USA, 1. Aufl., 654-666
- Ferris D. J., Frisbie D. D., Kisiday J. D., McIlwraith C. W., Hague B. A., Major M. D., Schneider R. K., Zubrod C. J., Watkins J. J., Kawcak C. E. und Goodrich L. R. (2009) Clinical follow-up of horses treated with bone marrow derived mesenchymal stem cells for musculoskeletal lesions. *Proc. Am. Ass. Equine Practnrs.* 55, 59-60
- Fibbe W. E. (2007) Modulation of immune responses by mesenchymal stem cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1106, 272-278
- Fortier L. A. und Smith R. K. (2008) Regenerative medicine for tendinous and ligamentous injuries of sport horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 24, 191-201
- Geburek F. und Stadler P. (2010) Regenerative Therapie von Sehnen- und Bänderkrankungen bei Pferden: Terminologie, Herstellung, biologisches Potential und In vitro-Effekte. *angenommen zur Publikation in Tierärztl. Prax.*
- Gillis C. L. (1997) Rehabilitation of tendon and ligament injuries. *Proc. Am. Ass. Equine Practnrs.* 43, 306-309
- Godwin E. E., Young N. J., Dudhia J., Beamish I. C. und Smith R. K. W. (2011) Implantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells demonstrates improved outcome in horses with overstrain injury of the superficial digital flexor tendon. *Equine vet. J.* im Druck, doi: 10.1111/j.2042-3306.2011.00363.x
- Guest D. D., Smith M. R. und Allen W. R. (2008) Monitoring the fate of autologous and allogenic progenitor cells injected into the superficial digital flexor tendon of horses: Preliminary study. *Equine vet. J.* 40, 178-181
- Guest D., Li X. und Allen W. (2009) Establishing an equine embryonic stem cell line. *Regen. Med.* 4, Suppl. 2, S18
- Guest D. J., Smith M. R. W. und Allen M. 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
- Herthel D. J. (2001) Enhanced Suspensory Ligament Healing in 100 Horses by Stem Cells and other Bone Marrow Components. *Proc. Am. Ass. Equine Practnrs.* 47, 319-321
- Herthel D. (2003) Clinical use of stem cells and marrow components to stimulate suspensory ligament regeneration. In: *Diagnosis and management of lameness in the horse*. Ross M. W., Dyson S. J. (Hrsg.). Saunders, Philadelphia, USA, 673-674
- Ionita J. C. und Brehm W. (2008) Autologe Blutprodukte in der Regenerativen Therapie: ACS, PRP, ACP, Knochenmark. *Vortragszusammenfassungen der Berliner Fortbildungstage 2008*, 12.-14. Juni, Berlin, *Pferdeheilkunde* 24, 588-591
- Kasashima Y., Takahashi T., Smith R. K. W., Goodship A. E., Kuwano A., Ueno T. und Hirano S. (1999) Prevalence of superficial digital flexor tendonitis and suspensory desmitis in Japanese Thoroughbred flat racehorses in 1999. *Equine vet. J.* 36, 346-350
- 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, <http://www.biomedcentral.com/1472-6750/7/26>
- Koch T. G., Berg L. C. und Betts D. H. (2008) Concepts for the clinical use of stem cells in equine medicine. *Can. Vet. J.* 49, 1009-1017
- Koch T. G., Berg L. C. und Betts D. H. (2009) Current and future regenerative medicine – principles, concepts, and therapeutic use of stem cell therapy and tissue engineering in equine medicine. *Can. Vet. J.* 50, 155-165
- Künneke A., Jaugstetter H. und Heyers P. (2008) Bone marrow-autologous conditioned plasma (BM-ACP) beim Pferd – erste klinische Erfahrungen einer neuen, autologen Therapieform bei der Behandlung von Sehnenkrankungen des Pferdes. *Pferdeheilkunde* 24, 519-523
- Leppänen M., Miettinen S., Mäkinen S., Wilpola P., Katiskalahti T., Heikkilä P. und Tulamo R. M. (2009a). Management of equine tendon & ligament injuries with expanded autologous adipose derived mesenchymal stem cells: a clinical study. *Regen. Med.* 4, Suppl. 2, S21
- Leppänen M., Heikkilä P., Katiskalahti T. und Tulamo R. M. (2009b). Follow up of recovery of equine tendon & ligament injuries 18-24 months after treatment with enriched autologous adipose-derived mesenchymal stem cells: a clinical study. *Regen. Med.* 4, Suppl. 2, S21
- Little D. und Schramme M. C. (2006) Ultrasonographic and MRI evaluation of a novel tendonitis model in the horse. *Vet. Surg.* 35, E15
- Lutz S., Jahn W., Sill V., Pokar J., Jaek F. und Brehm W. (2010) Vergleich der intraläsionalen Behandlung von Fesselträgerläsionen mit thrombozytenangereichertem Plasma (PRP) und xenogener, azellulärer Matrix (ACell®). In: *Dtsch. Vet. Med. Gesellsch. (Hrsg.): 20. Arbeitstagung der Fachgruppe „Pferdekrankheiten“*, Hannover, 29.2.-1.3.2010; Gießen: DVG-Service GmbH, 2010, S. 61
- Majewski M., Ochsner P., Liu F., Flückiger R. und Evans C. H. (2009) Accelerated healing of the rat Achilles tendon in response to autologous conditioned serum. *Am. J. Sports Med.* 37, 2117 – 2125
- Mitchell R. D. (2006) Treatment of tendon and ligament injuries with UBM powder. *Proceedings of 9th International Conference of World Equine Veterinary Association*, Marrakech, Marokko, 22.-26. Januar 2006; S. 153-154

- Mountford D. R., Smith R. K. W. 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
- Nixon A. J., Dahlgren L. A., Haupt J. L., Yeager A. E. und Ward D. L. (2008) Effect of adipose derived nucleated cell fractions on tendon repair in horses with collagenase-induced tendinitis. *Am. J. vet. Res.* 69, 928-937
- O'Meara B., Bladon B., Parkin T. D., Fraser B. und Lischer C. J. (2010) An investigation of the relationship between race performance and superficial digital flexor tendonitis in the Thoroughbred racehorse. *Equine vet. J.* 42, 322-326
- 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
- Paris D. B. B. P. und Stout T. A. E. (2010) Equine embryos and embryonic stem cells: Defining reliable markers of pluripotency. *Theriogenology* 74, 516-524
- Personett L., McAllister E. und Mansmann R. (1983) Proximal suspensory desmitis. *Mod. Vet. Pract.* 64, 541-545
- Ribitsch I., Burj J., Gittel C. und Brehm W. (2009) Umbilical cord blood & umbilical cord matrix: a comparison of two potential mesenchymal stem cell sources. *Regen. Med.* 4, Suppl. 2, S24
- Richardson L. E., Duhia 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
- Rindermann G., Cislakova M., Amdt G. und Carstanjen B. (2010) Autologous conditioned plasma as therapy of tendon and ligament lesions in seven horses. *J. Vet. Sci.* 11, 173-175
- Rijkenhuizen A. B. M., Gietemann I. V. und van der Reijnd C. M. (2007) Desmitis des Fesselträgers und Desmopathie des Fesselträgerursprungs an der Vorder- und Hintergliedmaße des Pferdes – eine retrospektive Studie über die Erfolge unterschiedlicher Behandlungen. *Pferdeheilkunde* 23, 357-365
- Rosenbrock A., Jacobi R., Pellmann R., Jaugstetter H. und Brehm W. (2004a) Der Einsatz der Übertragung autologen Knochenmarkes in der Pferdeorthopädie. In: Deegen E., Röcken M., Hrsg., Tagungsband der 18. Arbeitstagung der Fachgruppe „Pferdekrankheiten“; 4.-5.3.2004, Hannover, Deutschland. Gießen: DVG-Selbstverlag; S.105-108
- Rosenbrock A., Jacobi R., Jaugstetter H. und Brehm W. (2004b). Autologous bone marrow transplantation to stimulate suspensory ligament regeneration in 24 horses – A clinical case control study. 12. ESVOT Congress; 10.12.9.2004, München, S. 264-265
- Sawdon H., Yovich J. V. und Booth T. (1996) Superficial digital flexor tendonitis in racehorses: Long term follow up of conservatively managed horses. *Aus. vet. J.* 14, 21-25
- 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
- Schramme M., Hunter S. und Campbell N. (2009) Ultrasonographic, MRI and histological evaluation of a new tendonitis model in the superficial digital flexor tendon of horses. *Regen. Med.* 4, Suppl. 2, S24
- Schramme M., Kerekes Z., Hunter S. und Labens R. (2010) MR imaging features of surgically induced core lesions in the equine superficial digital flexor tendon. *Vet. Radiol. Ultrasound* 51, 280-287
- Schramme M. C., Caniglia C. J. und Smith R. K. (2011) The effect of intralesional bone marrow derived mesenchymal stem cells on collagen fibril size in a surgical model of equine superficial digital flexor tendonitis. Proc. of the 20th Annual Scientific Meeting of the European College of Veterinary Surgeons, Ghent, July 7-9, 2011, 71
- Smith R. K. W., Korda M. und Blunn G. W. (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. und 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
- Smith R. K. (2008a) Mesenchymal stem cell therapy for equine tendinopathy. *Disabil Rehabil.* 30, 1752-1758
- Smith R. K. W. (2008b) Stem cell therapy for tendon and ligament injuries in the horse – technique and outcome. *Pferdeheilkunde* 24, 513-518
- Smith R., Young N., Duhia J., Kasashima Y., Clegg P. und Goodship A. (2009) Effectiveness of bone-marrow-derived mesenchymal progenitor cells for naturally occurring tendinopathy in the horse. *Regen. Med.* 4, Suppl. 2, S25
- Souza M. V., van Weeren P. R., van Schie H. T. M. und van de Lest C. H. A. (2010) Regional differences in biochemical, biomechanical and histomorphological characteristics of the equine suspensory ligament. *Equine vet. J.* 42, 611-620
- Taylor S. E., Smith R. K. und Clegg P. D. (2007) Mesenchymal stem cell therapy in equine musculoskeletal disease: scientific fact or clinical fiction? *Equine vet. J.* 39, 172-180
- Textor J. (2011) Autologous Biologic Treatment for Equine Musculoskeletal Injuries: Platelet Rich Plasma and IL-1 Receptor Antagonist Protein. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 27, 275-298
- Toricelli P., Fini M., Filardo G., Tschon M., Pisedda M., Pacorini A., Kon E. und Giardino R. (2011) Regenerative medicine for the treatment of musculoskeletal overuse injuries in competition horses. *Int. Orthop.* 35, 1569-1576
- van den Belt A. J., Dik K. J. und Barneveld A. (1994) Ultrasonographic evaluation and long term follow-up of flexor tendonitis/desmitis in the metacarpal/metatarsal region in Dutch warmblood horses and standardbred racehorses. *Vet. Q.* 16, Suppl 2, S76-S80
- van Schie H. T. M., Backer E. M., Jonker A. M. und van Weeren P. R. (2000) Ultrasonographic tissue characterization of equine superficial digital flexor tendons by means of grey level statistics. *Am. J. Vet. Res.* 61, 210-219
- van Schie H. T. M., Backer E. M., Cherdchutham W., Jonker A. M., van der Lest C. H. A. und van Weeren P. R. (2009) Monitoring of the repair process of surgically created lesions in equine superficial digital flexor tendons by use of computerized ultrasonography. *Am. J. Vet. Res.* 70, 37-48
- Wagels R., Rühmann K., Stadler P. und Drommer W. (2001) Feinna-delbiopsie aus den Beugesehnen des Pferdes. *Tierärztl. Prax.* 29(G), 199-205
- Waselau M., Sutter W. W., Genovese R. L. und Bertone A. L. (2008) Intralesional injection of platelet-rich-plasma followed by controlled exercise for treatment of midbody suspensory ligament desmitis in Standardbred racehorses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 232, 1515-1520
- Watts A. E., Yeager A. E., Kopyov O. V. und Nixon A. J. (2011) Fetal derived embryonic-like stem cells improve healing in a large animal flexor tendonitis model. *Stem Cell Res. Ther.* 2, 4
- Weinberger T. (2008) Klinische Erfahrungen mit der Anwendung von ACS/ORTHOKIN/IRAP beim Pferd. *Pferde Spiegel.* 11, 111-115
- Witte T. H., Yeager A. E. und Nixon A. J. (2011) Intralesional injection of insulin-like growth factor-I for treatment of superficial digital flexor tendonitis in Thoroughbred racehorse: 40 cases (2000-2004). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 239, 992-997

Dr. Florian Geburek, Dipl. ECVS  
 Fachtierarzt für Pferde  
 Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover  
 Klinik für Pferde  
 Bünteweg 9  
 30559 Hannover  
 florian.geburek@tiho-hannover.de