



Foto: © istockphoto.com, vikarius

# Regenerative Medizin

Kurz vorgestellt: verschiedene Methoden beim Pferd

Michael Salzgeber,  
Mobile PferdePraxis,  
Herdwangen-Schönach

Das Problem bei Band- und Sehnenverletzungen des Pferdes ist, dass je nach Ausmaß der Läsion ein strukturell und biomechanisch minderwertiges Narbengewebe entsteht. Dabei handelt es sich auch unter optimalen, konservativen Bedingungen um eine Reparatur und nicht um Regeneration.



Die Verwendung verschiedener körpereigener Substrate, Substanzen, Zellen jeweils einzeln oder in Kombination hat das Ziel, dem Körper zu helfen, zerstörtes Sehngewebe über die Reparatur hinaus auch zu regenerieren. Die hier vorgestellten Methoden der Verwendung von Hyaluronsäure, IRAP, PRP und Stammzellen sind immer von der Lokalisation, Art und Größe des Schadens, der örtlichen Verfügbarkeit, der zu vermutenden Häufigkeit der Anwendung und den Kosten auszuwählen. Die Rekonvaleszenzphase ist in jedem Fall recht lang und das Rehabilitationsprogramm mit entsprechenden Kontrolluntersuchungen darauf abzustimmen. Wer sich über diese kurzen Methodenbeschreibungen hinaus belesen möchte, verweise ich auf die Literatur am Ende des Artikels.

#### Hyaluronsäure

Die Hyaluronsäure ist ein Glycosaminoglycan, das sowohl zur Gelenksbehandlung als auch zur Behandlung von Schäden der OBS (oberflächliche Beugesehne), TBS (tiefe Beugesehne) und M. interosseus medius eingesetzt wird. Beim Einsatz im Bereich der Gelenke spielt sie eine wichtige Rolle bei der Synthese von Proteoglycanen. Diese verbessern die Permeabilität des Gelenkknorpels und sorgen somit für eine verbesserte Ernährung desselben. Bei intraartikulärer Gabe wirkt sie analgetisch und reduziert die Freisetzung von Entzündungsfaktoren. Dadurch ist sie beim Einsatz einer Arthritisbehandlung auch krankheitsmodifizierend. Im Bereich des Einsatzes bei Sehnendefekten unterstützt die Hyaluronsäure die Verhinderung weiterer Sehnenfaserzerstörungen, verbessert die Wiederherstellung der Sehnenstabilität und grenzt Begleitreaktionen wie Bindegewebszubildung und Verklebungen ein. Sie wirkt auch hier antiinflammatorisch und fördert die Bildung von Kollagen-Typ III (Kollagen mit kleinem Durchmesser). Anschließend findet in der Phase des Remodelling die Umbildung der ungeordneten Fasern der bindegewebigen Narbe vom Kollagen-

Typ III in Typ I statt. Dies wird zusätzlich durch ein entsprechendes Bewegungsprogramm unterstützt.

Ein besonderer Schwachpunkt dieser Reparatur ist der Bereich der Übergänge zwischen Narbe und Sehne. Die unmittelbare Reparatur dauert ca. 2–3 Monate. Reifes Narbengewebe liegt nach ca. 6 Monaten vor. Bis zu 18 Monate sind weitere Umbauvorgänge nachweisbar. Es gilt zu beachten, dass Kortikosteroide die Fibroblasten- und Glycosaminoglycansynthese, die für den Reparatursprozess sehr wichtig sind, hemmen. Im Zuge von Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass bei der Gabe von hochmolekularer, langkettiger Hyaluronsäure (Molekulargewicht über 2 Mio. Dalton) große Mengen Kollagenfibrillen mit kleinem Durchmesser (30–60 nm) gebildet werden und die Wahrscheinlichkeit einer Abheilung eines Sehnen Schadens bei ca. 60% liegt (Vergleichsgruppe mit Placebo 24%). Eine extrakorporale Stoßwellentherapie kann sich besonders im Ursprungsbereich des M. interosseus medius bei Verwendung eines entsprechenden Gerätes und passender Anwendung positiv auf die Heilung auswirken. Ebenso auch bei Insertionsdesmopathien des Ansatzes, bei chronischer Tendinitis mit Verkalkungsherden im mittleren Bereich und bei chronischer Tendinitis der OBS. Bei intratendinöser Injektion ist das Verteilungsverhalten von Flüssigkeiten zu beachten. Bei einer Injektionsmenge von 2 ml verteilt sich die Flüssigkeit zwischen den Sehnenfasern und im peritendinösen Raum auf einer Länge von ca. 6 cm proximal und distal des Depots. Dies bedeutet, dass es erst bei ausgedehnten Sehnen Schäden von über 10 cm sinnvoll erscheint, mehr als ein Depot mit entsprechendem Abstand zu setzen.

#### IRAP (Orthokine®vet)

Die Anwendungsgebiete liegen im Bereich der Gelenke, Sehnencheiden, Sehnen und des Rückens. Hier besonders zur Behandlung von sogenannten „kissing spines“ oder bei Nervenschä-

den. Bei der Therapie wird der entzündliche Prozess durch natürliche Proteine gestoppt und im Bereich der Sehnen die Bildung von Narbengewebe reduziert. IRAP ist ein Autologes Conditioniertes Serum (ACS), das in wenigen Schritten unter sterilen Kautelen hergestellt wird. Nach der Abnahme des Blutes in eine speziell präparierte Spritze wird diese für 24 Stunden bei 37°C inkubiert. Danach wird diese zentrifugiert und im Anschluss das ACS in mehreren Portionen entnommen, es ist dann bei –18°C sieben Monate lagerfähig. Dieses ACS beinhaltet große Mengen Wachstumsfaktoren und Interleukin-1 Antagonisten. Letztere stellen somit körpereigene, molekularbiologische Gegenspieler des Interleukin-1 (IL-1) Botenstoffs dar. IL-1 bewirkt Entzündungsreaktionen und Gewebeschäden. Durch die Antagonisierung wird dieser Prozess gestoppt und die Wachstumsfaktoren unterstützen die Regeneration des geschädigten Gewebes. Je nach Art und Umfang der Erkrankung ergeben sich verschiedene Therapieregimes, die sich in der Anzahl der Injektionen und der Intervalle unterscheiden. Bei der Anwendung im Gelenk entscheidet das Volumen eines Gelenks mit über die zu injizierende Menge.

Bei der Injektion in festes Gewebe ist die Verteilung der Flüssigkeit zu beachten, die ich bereits oben beschrieben habe.

#### Platelet Rich Plasma – PRP

Bei Plättchenreichem Plasma (Thrombozytenkonzentrat) handelt es sich um ein in mehreren Zentrifugationschritten hergestelltes Serum, das eine mindestens um das vierfach höhere Konzentration an Thrombozyten enthält als das ursprüngliche, venöse Blut. Es ist ebenso autolog wie IRAP. Durch die Aktivierung der Thrombozyten hervorgerufene Aggregation werden zahlreiche Wachstumsfaktoren wie „transforming growth factor“ (TGF  $\beta$ 1 und  $\beta$ 2), „insulin-like growth factor“ (IGF 1), „platelet derived growth fac-

tor“ (PDGF) und „vascular endothelial growth factor“ (VEGF) freigesetzt. Die TGFs greift in die Bildung von zellzerstörenden Zytokinen ein. VEGF regt die Bildung eines Proteoglycans (Decorin) an, welches auf den Kollagenfibrillendurchmesser und Vernetzung Einfluss nimmt. Dadurch wird die Festigkeit und Organisation im narbigen Anteil der Sehne nach Verletzung positiv beeinflusst. Mit der Anregung der Bildung von „cartilage oligomeric matrix protein“ (COMP) wird die Kollagenfibrillogenese erhöht.

In Studien wurde festgestellt, dass die Bildung von Kollagenfibrillen ungefähr doppelt so schnell erfolgt wie in Kontrollgruppen und das Remodelling aus der unorganisierten Matrix der Fibrillentypen III + IV über den noch nicht vollständig ausgerichteten Typ II zu Typ I hauptsächlich zwischen dem dritten und sechsten Monat erfolgt. Durch die Aktivierung von Endothelzellen (VEGF) kommt es zu einer gesteigerten Angiogenese, die wiederum eine Steigerung der Osteogenese zur Folge hat. Letztere ist eine sekundäre Reaktion, die allerdings beim Einsatz des PRP zur Behandlung der Insertionsdesmopathie des M. interosseus medius und bei anderen Schäden im Insertionsbereich von Bändern und Sehnen erwünscht ist. Ein weiterer Einsatzbereich ist die Verwendung von PRP bei knöchernen Defekten durch die knochenverdichtende Wirkung der angeregten Osteogenese. Um die Knochenregeneration besonders vorteilhaft zu beeinflussen, sollte die Thrombozytenkonzentration ungefähr bei 1 Mio./ $\mu$ l liegen. Ein niedrigerer Wert hat einen suboptimalen Effekt und ein höherer Wert führt paradoxerweise zu einer Hemmung (Weibrich et al. 2004).

#### Stammzellen

Zur Gewinnung von Stammzellen gibt es verschiedene Verfahren. Zum einen können diese über die Entnahme von Fettgewebe mittels Liposuktion und anschließender Extraktion und andererseits über Knochenmarkspunktion gewonnen werden.

Nach der Entnahme von Knochenmarkszellen werden diese über einen länger dauernden, über mehrere Kaskaden erfolgenden Prozess aufbereitet und an gezüchtet. Je nach Art und Schwere der Verletzung kann es durchaus sinnvoll sein, im verletzten Gebiet sofort nach der Knochenmarksentnahme einen kleinen Teil der Flüssigkeit zu platzieren, um möglichst rasch eine kleine Menge multipotenter mesen-

chymaler Stromazellen (MSC) einzubringen. Diese Stammzellen sind adulte Stammzellen, da sie postnatalen Ursprungs sind und sich in durchweg reifem Gewebe befinden. Dennoch sind sie multipotent und können Gewebe mesodermaler Herkunft bilden. Untersuchungen haben gezeigt, dass eine Kryokonservierung nur einen geringen nachteiligen Effekt hat. Eine Konservierungszeit von ein- einhalb Jahren verminderte die

Zahl der lebenden Zellen um etwas mehr als 11% (Goletz 2009).

Immunhistochemisch können MSC extrazelluläre Matrixproteine wie Fibronectin, Perlecan, Kollagen IV und  $\beta$ 1-Integrin exprimieren. Hinzu kommen Wachstumsfaktoren, Interleukine und weitere Zytokine. Adulte MSC zeichnen sich dadurch aus, dass sie immunmodulatorisch wirken. Sie sind negativ für das oberflächenantigen MHC-II und werden des-



## THERAPIE

halb vom Immunsystem nicht als fremd erkannt. Sie unterdrücken eine T-Zell-Aktivierung und –Proliferation und hemmen stimulierte Lymphozyten in ihrer Proliferation. Dieser Effekt scheint über die Sekretion von TGF- $\beta$ , HGF (hepatocyte growth factor) und direkten Zell-Zell-Kontakt vermittelt zu werden. Außerdem kommt es zu einer Hemmung der Zytokine TNF- $\alpha$  (Tumor Nekrose Faktor) und IFN- $\gamma$  (Interferon), die in der Entzündungskaskade eine wichtige Rolle spielen.

Bei einer Behandlung mit MSC zeigen die Narben im Sehngewebe im Verlauf der Heilung und Remodelling viel eher eine normale Sehnenarchitektur mit Fibrillen des Kollagentyps I als bei unbehandelten Sehnen. Dort herrscht Kollagen- Typ III vor. In histologischen und immunhistochemischen Untersuchungen zeigte sich, dass derartig behandelte Sehnen eine qualitativ verbesserte Sehnenextrazellulärmatrix wegen des hohen Gehaltes an Kollagen-Typ I, eine verbesserte Faserorientierung und COMP-Expression (cartilage oligomeric matrix protein) aufwiesen. Somit kann als ein wesentlicher Vorteil der MSC gestützten Therapie bei Sehenschäden die bessere Organisation der Narbenstruktur hin zu einer eher normalen Sehnenstruktur angesehen werden. Ein Nachteil einer autologen Übertragung der MSC besteht darin, dass das Erreichen von mindestens 8 besser 10 Mio. Zellen ab

der Entnahme meist zwischen zwei und vier Wochen dauert. Eine Möglichkeit diesen gravierenden Nachteil abzumildern, ist die eingangs erwähnte direkte Injektion nicht aufbereiteten Knochenmarkpunktats. Eine weitere Möglichkeit ist die Nutzung allogener MSC. Wie oben bereits erwähnt, gibt es verschiedene Effekte, die dafür sorgen, dass diese Zellen nicht als körperfremd vom Immunsystem erkannt werden. Dies würde bedeuten, dass von jüngeren, gesunden Pferden MSC gezüchtet werden kann, die kryokonserviert, im Bedarfsfall fast sofort zur Verfügung stehen würden, da diese nur noch aufbereitet werden müssten. Dieses Verfahren hätte bei älteren Pferden, bei denen es wegen der Zunahme der Verknöcherung öfters zu Problemen bei der Entnahme/Isolation von MSC kommt, die häufig auch noch ihre Multipotenz verlieren, weitere Vorteile wie z.B. die Medikamentenfreiheit, da Pferde mit orthopädischen Verletzungen meist mit NSAID, Kortikoiden oder sogar Antibiotika vortherapiert sind. Zudem ist es leider so, dass die Verletzungswahrscheinlichkeit mit dem Alter der Pferde steigt. In Bezug auf die reiterliche Verwendung werden nach verschiedenen Untersuchungen ca. 50% der Pferde im Dressursport eingesetzt. Dort wird dann häufig auch eine häufigere Insertionsdesmopathie des M. interosseus medius an der Hintergliedmaße beobachtet.

Weiterhin gibt es auf Grund des zeit- und materialaufwändigen Präparierens, der Anzucht und Lagerung deutlich höhere Kosten gegenüber anderen Formen der Regenerativen Medizin.

### Lesen Sie in der nächsten Ausgabe einen Erfahrungsbericht zu PRP beim alten Pferd!

#### Literatur

Journal Club „Studie zur Gelenksbehandlung mit Hyaluronsäure“, 26.06.2016, [www.vetline.de](http://www.vetline.de)

Dissertation A.K. von Preyss, FU Berlin, „Verteilung von Hyaluronsäure nach Injektion in die oberflächlichen und tiefen Beugesehen und des M. interosseus medius des Pferdes – eine klinische und experimentelle Studie“, 2008

„PRP – Platelet Rich Plasma – Neue Behandlung bei Sehnenverletzungen“, TAP Dahlkamp

Journal Club „Platelet-rich Plasma (PRP)-Injektion bei Beugesehnenläsionen des Pferdes“, 02.03.2017, [www.vetline.de](http://www.vetline.de)

IMC-Wiki, „Platelet Rich Plasma (PRP)“, IMC International Medical College/MIB GmbH

Dissertation von M. Banse, Justus-Liebig-Universität Gießen, „Der Einfluss von regenerativen Therapien auf die Heilung des M. interosseus beim Pferd: Eine kontrollierte prospektive klinische und sonographische Studie“, 2011



### Michael Salzgeber

ist praktischer Tierarzt und betreibt eine Mobile PferdePraxis ([www.mobile-pferde-praxis.de](http://www.mobile-pferde-praxis.de)). Von 2003 bis 2016 war er an der Tierärztlichen Klinik für Pferde Großwallstadt angestellt und arbeitete zusätzlich von 2010 bis 2016 als Assistenztierarzt bei der EquiProDenta GmbH in Mühlthal. Außerdem ist Michael Salzgeber PferdeDentalPraktiker nach IGFP sowie DIPO-Pferdeosteotherapeut.

### JETZT NEU: Mit Hialurom Arthrose behandeln!

Behandeln sie ab sofort Arthrosebeschwerden mit Natriumhyaluronat. Hialurom und Hialurom Hondro sind sterile, viskoelastische Natriumhyaluronatlösungen zur intraartikulären Injektion in den Gelenkspalt. Die beiden hochmolekularen Produkte dienen als viskoelastische Ergänzung oder Ersatz der Synovialflüssigkeit. Bei kleineren Gelenken ist Hialurom die richtige Wahl. Hialurom ist eine Fertigspritze mit 2 ml Natriumhyaluronat (1,5%). Bei größeren Gelenken eignet sich das durch Chondroitinsulfat-Natrium quervernetzte Hialurom Hondro. Hialurom Hondro ist eine Fertigspritze mit 3 ml Natriumhyaluronat (2%). Damit bieten beide Produkte eine effektive Behandlungsoption in Ihrem Praxisalltag.

[www.hialuromvet.de](http://www.hialuromvet.de) | [www.actrevo.com](http://www.actrevo.com)

