

Einsatz von Stammzellen in der Therapie von Lahmheiten beim Pferd

Janina Burk, Uta Delling, Walter Brehm

Stammzellen werden seit einigen Jahren mit sehr gutem Erfolg in der Behandlung von Sehnenkrankungen des Pferdes eingesetzt. Auch für die Therapie von Gelenkerkrankungen gelten Stammzellen als großer Hoffnungsträger. Dieser Artikel zeigt auf, wie die Stammzelltherapie in die Praxis umgesetzt werden kann. Neben dem wissenschaftlichen Hintergrund wird auf Indikationen und Erfolgschancen eingegangen und praktisches Know-how für die Probenentnahme und Stammzellapplikation vermittelt.

Einleitung

Regenerative Medizin und Stammzelltherapie sind in den letzten Jahren sehr populär geworden und werden sowohl in der Laien- als auch in der Fachpresse viel diskutiert. Der Grundgedanke der regenerativen Medizin besteht darin, durch den Einsatz biologischer Materialien wie Zellen, Wachstumsfaktoren und Grundsubstanz defekte Gewebe und Organe so regenerieren zu können, dass sie ihre volle Funktionalität wieder erlangen. Dies eröffnet große Perspektiven hinsichtlich unzähliger potenzieller therapeutischer Anwendungen.

In der Pferdemedizin liegt der Fokus der Stammzellforschung und -anwendung in der Therapie orthopädischer Erkrankungen. Insbesondere bei Sehnenverletzungen werden mesenchymale Stammzellen (MSC) bereits recht häufig und mit sehr gutem Erfolg klinisch angewendet. Über den Einsatz von MSC in der Behandlung der Arthrose beim Pferd liegen ebenfalls erste klinische Erfahrungsberichte vor. Sehnen und Knorpel haben eine geringe eigene Regenerationskapazität, sodass es infolge von Verletzungen bzw. Erkrankungen dieser Gewebe nach herkömmlicher Therapie zur Bildung von minderwertigem Narbengewebe innerhalb der Defekte kommt. Ziel der Stammzellapplikation bei diesen Indikationen ist es, eine echte Regeneration des Gewebes zu erreichen.

Anwendung und Wirkprinzip von Stammzellen

Die Applikation der Stammzellen erfolgt bei orthopädischen Indikationen lokal. Equine Sehnenverletzungen, die sich meist als typische „Core lesions“ darstellen, bieten ideale Bedingungen für eine intraläsionale Applikation einer MSC-Suspension. Das die Läsion umgebende intakte Sehnen- und Paratenon halten dabei die injizierte Flüssigkeit an Ort und Stelle. Bei der Applikation von MSC zur Therapie von Osteoarthrose kann ebenfalls eine Zellsuspension in die Gelenkhöhle injiziert werden. Dabei wird die Eigenschaft der Stammzellen, zu defekten Geweben zu migrieren (Homing), ausgenutzt. Für die Therapie fokaler Knorpeldefekte eignet sich jedoch vermutlich die Applikation von in Gerüstsubstanz oder Fibrinkleber eingebetteten Stammzellen direkt in den Knorpeldefekt besser.

Derzeit werden fast ausschließlich undifferenzierte Stammzellen in der Pferdeorthopädie eingesetzt. Die äußeren Bedingungen am Applikationsort bewirken dann eine Differenzierung der applizierten Zellen in den benötigten Zelltyp, im Sinne eines „*in-vivo*-Tissue-Engineerings“. Hierfür sind lokal vorhandene Wachstumsfaktoren, der Kontakt der Stammzellen zur Gewebegrundsubstanz und zu anderen, bereits ausdifferenzierten Zellen sowie die natürliche, stetige mechanische Stimulation wichtig.

Allerdings ist noch unklar, ob der Hauptbeitrag der MSC zur Geweberegeneration in ihrer Differenzierung und somit im Ersatz der geschädigten Zellen liegt oder ob vielmehr die Stammzellen durch Synthese von Wachstumsfaktoren das umliegende Gewebe zur Heilung anregen.

Wichtig ist es zu betonen, dass die Heilung durch die MSC-Injektion nicht schneller voranschreitet. Auch hier muss der Patient über Monate hinweg schrittweise antrainiert werden, da es durch eine zu schnelle Belastung zu Rezidiven kommt.

Bisherige Erkenntnisse sprechen dafür, dass durch den Einsatz von Stammzellen

auch bei schlecht heilenden Geweben wie Sehnen oder Knorpel eine *Regeneratio ad integrum* erzielt werden kann.

Für Sehnen- und Knorpelgewebe ist bewiesen, dass die injizierten Stammzellen eine Füllung des Defekts bewirken, ohne dass minderwertiges Narbengewebe entsteht, welches die für die Lokomotion wichtige Flexibilität einschränken würde. Allerdings hat das neu entstandene Gewebe zunächst die Eigenschaften juvenilen Gewebes und muss erst heranreifen, bevor es belastbar ist. Danach jedoch ist die Belastbarkeit höher als nach konservativer Therapie und Rezidive treten deutlich seltener auf [16].

Welche Stammzellen werden angewandt?

In der Stammzelltherapie beim Pferd werden derzeit vor allem adulte MSC eingesetzt (► **Kasten 1**). Hierbei ist zwischen

- MSC verschiedener Quellen (z.B. Knochenmark oder Fettgewebe),
- autologen oder allogenen MSC sowie
- zwischen selektierten MSC oder nicht selektierten mononukleären Zellen (MNC)

zu unterscheiden.

Als Quellen für equine adulte Stammzellen sind bislang Knochenmark und Fettgewebe sowohl *in vitro* am intensiven charakterisiert worden als auch bereits in der klinischen Anwendung gut etabliert. Da verschiedene Firmen die Isolierung und Expansion von MSC aus diesen Ursprungsgeweben kommerziell anbieten, eignen sich beide Quellen gut für die Anwendung in der Praxis. Außerdem wurde die Applikation von Stammzellen aus Sehnen- und Knorpelgewebe beschrieben [8]. Weitere alternative Stammzellquellen wie z.B. Nabelschnurblut und -gewebe oder das Periodontium sind derzeit Gegenstand der Forschung oder werden in Einzelfällen angewandt.

In der Regel werden autologe (körpereigene) Stammzellen verwendet. Dies hat den Vorteil, dass nicht mit einer Immunreaktion des Patienten zu rechnen ist, je-

Kasten 1: Mesenchymale Stammzellen

Unter dem Begriff „Stammzelle“ versteht man *per definitionem* eine Zelle, die sowohl zur Selbstreplikation als auch zur Differenzierung in Zellen verschiedener Gewebetypen in der Lage ist. Dabei ist das Ausmaß der Differenzierungs- und Selbstreplikationskapazität abhängig davon, aus welchem Gewebe bzw. zu welchem Zeitpunkt der Ontogenese eines Individuums die Stammzelle gewonnen wurde.

Im Gegensatz zu den toti- bzw. pluripotenten embryonalen Stammzellen sind adulte Stammzellen, die erst nach abgeschlossener Embryonalentwicklung – prä- oder postnatal – gewonnen wurden, in ihrer Differenzierungskapazität so eingeschränkt, dass sie nur noch Zelltypen einer bestimmten Keimlinie hervorbringen können (Multipotenz).

Für die praktische Anwendung in der Pferdemedizin werden derzeit fast aus-

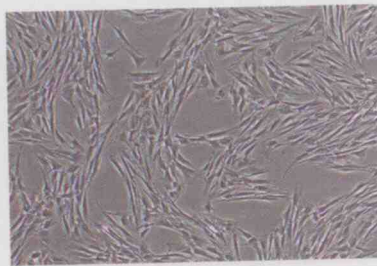


Abb. 1 Mesenchymale Stammzellen. © J. Burk.

schließlich adulte, mesenchymale Stammzellen (korrekter: multipotente mesenchymale Stromazellen) genutzt (► Abb. 1). Diese stammen vom mesodermalen Keimblatt ab und sind in der Lage, sich in Zellen aus Binde- und Stützgewebe, wie z. B. Knorpel, Knochen oder Sehnen, zu differenzieren (► Abb. 2). Daher eignen sich diese Zellen gut für den Einsatz in der Orthopädie.

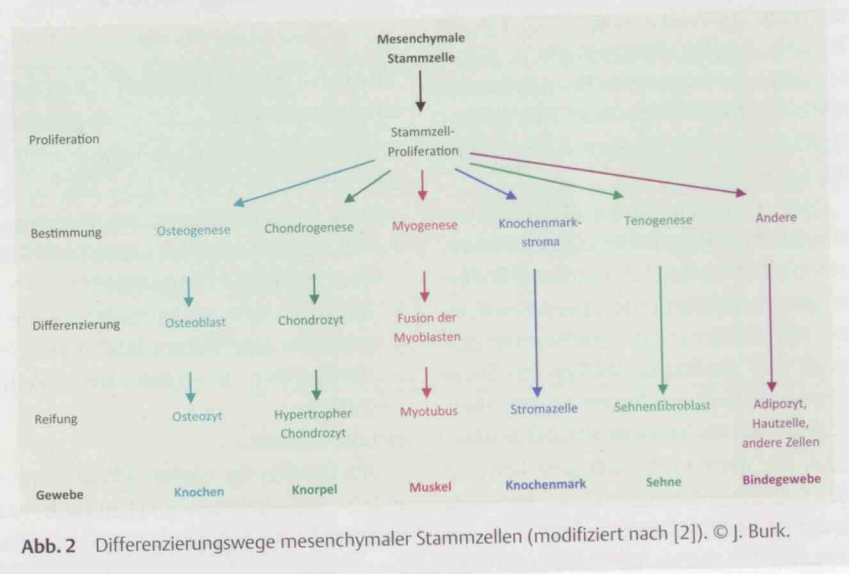


Abb. 2 Differenzierungswege mesenchymaler Stammzellen (modifiziert nach [2]). © J. Burk.

doch auch den Nachteil, dass vor der Behandlung zunächst Knochenmark oder Fettgewebe vom Patienten entnommen und im Labor verarbeitet werden muss, was mit einem gewissen Risiko bei der Gewebeentnahme und einer Verzögerung der Behandlung verbunden ist. Die Anwendung allogener (körperfremder) Stammzellen ist bisher weniger verbreitet. Es gibt jedoch Studien, die dafür sprechen, dass dies zu ebenso guten Erfolgen führt und dass keine erhöhte Immunreaktion auf die MSC-Injektion stattfindet [11].

Der Zellisolierungsprozess

Wird die Behandlung als Stammzelltherapie bezeichnet, sollte davon auszugehen sein, dass es sich bei den injizierten Zellen tatsächlich ausschließlich um mesenchymale Stammzellen handelt und nicht um die gesamte mononukleäre Zellfraktion des Ursprungsgewebes. Dies wird bei Kenntnis der Zellisolierungsprozedur im Labor verständlich:

Zunächst kann aus dem Knochenmark bzw. dem Fettgewebe nur die mononukleäre Zellfraktion isoliert werden. Im Falle von Knochenmark sind nur 0,002% dieser mononukleären Zellen MSC, bei

Fettgewebe etwa 2% [4]. Werden die isolierten Zellen bereits zu diesem Zeitpunkt dem Patienten verabreicht, handelt es sich also um MNC mit einem geringen Anteil an MSC und daher streng genommen nicht um eine reine Stammzelltherapie. Erst im weiteren Verlauf können die MSC durch Kultivierung in Zellkulturflaschen selektiert werden. Anschließend werden die selektierten MSC expandiert, sodass eine ausreichende Zellzahl für die therapeutische Anwendung zur Verfügung steht. Dieser Selektions- und Expansionsprozess nimmt je nach Viabilität der MSC etwa 2–4 Wochen in Anspruch. Der Vorteil dabei ist, dass eine weitgehend reine, homogene und hochkonzentrierte MSC-Population appliziert werden kann.

In diesem Zusammenhang sei auch die Therapie mit unaufbereitetem Knochenmark erwähnt, die ebenfalls oft als Stammzelltherapie deklariert wird. Hierbei handelt es sich jedoch um eine Übertragung aller Knochenmarkbestandteile (Knochenmarküberstand/Plasma, Erythrozyten und MNC) und nicht um eine eigentliche Stammzelltherapie.

Einsatz bei Sehnenkrankungen

Verletzungen der Sehnen und Bänder, insbesondere der oberflächlichen Beugesehne und des Fesselträgers, gehören zu den häufigsten muskuloskeletalen Verletzungen des Sportpferds.

Nach einer Sehnenverletzung findet anstelle einer *Regeneratio ad integrum* eine narbige Reparatur statt, was zu reduzierter Sehnenelastizität führt [16]. Daher kommt es zu einer hohen Anfälligkeit für Rezidive: es werden Rückfallquoten von bis zu 80% beschrieben [7].

Zahlreiche medikamentelle oder chirurgische Behandlungsmethoden, die zum Teil häufig praktiziert werden, sind in der Literatur beschrieben. Dennoch sind die Erfolge dieser Therapien gegenüber einer konservativen Therapie mit langer Rehabilitationsperiode und kontrolliertem Bewegungsregime kaum nachweisbar [7,9]. Diese Umstände führen die Sehnen-therapie des Pferdes hin zum Konzept der regenerativen Medizin, um anstelle der narbigen Reparatur eine tatsächliche Heilung zu erzielen.

Erstmals wurde der Einsatz von autologen MSC in der Sehnen-therapie beim Pferd im Jahr 2003 beschrieben [17]. Seit-her konnten verschiedene Studien vielversprechende Erfolge aufweisen.

