

# Regenerative Therapiemöglichkeiten beim Pferd – eine Übersicht

■ THOMAS WEINBERGER

## ► Einleitung

Biotechnologische Verfahren erhalten immer mehr Einzug in der Pferdemedizin. Eine Übersicht stellt die folgenden Verfahren vor: ACP, ACS, PRP und Stammzellen. Die Methoden werden kurz erläutert und deren Anwendung kritisch diskutiert.

► **Schlüsselwörter:** irap, orthokin, ACS, ACP, Knochenmark, PRP, Stammzellen, Acelere f PRP

In den letzten 5 bis 10 Jahren haben biotechnologische Verfahren im therapeutischen Bereich der Pferdemedizin immer mehr zugenommen. Früher stellten die „Eigenblut-Therapien“ eine Domäne der Naturheilpraktiker dar, die von den Schulmedizinern im Human- und Veterinärbereich zum Teil nur müde belächelt oder sogar als Scharlanterie bezeichnet wurden. Das Entnehmen von Blut aus der Vene, das kunstvolle Schwenken und Rühren dieser Spritze und – evtl. in Kombination mit homoöpathischen Substanzen – wieder injizieren in die Muskulatur waren gängige Verfahren, deren therapeutischer Effekt nie in wissenschaftlichen Studien deutlich nachgewiesen werden konnte. Diese Behandlungsform muss ebenso als autologe Therapie wie die Vielzahl von aktuellen biotechnologischen Verfahren angesehen werden. Solche, auch als regenerative Therapien bezeichneten Methoden, unterscheiden sich dennoch deutlich von der klassischen „Eigenblut-Therapie“. Hier wird versucht aus körpereigenen Stoffen wesentliche Bestandteile zu isolieren, zu vermehren und über technologische Schritte letztendlich so zu optimieren, dass positive therapeutische Ergebnisse erzielt werden können. Hauptindikationen sind für diese autologen Therapieverfahren orthopädische Erkrankungen, wie Gelenkentzündungen, Knorpelschäden, Band- und Sehnenprobleme etc.

Dieser Artikel möchte eine Übersicht über den Stand der Möglichkeiten geben und dabei die einzelnen Methoden vorstellen. Da sich dieser Bereich kontinuierlich weiter entwickelt wird kein Anspruch auf Vollständigkeit erwartet.

## **Regenerative therapeutic options for horses – an overview**

### **Summary**

*Biotechnological therapeutics methods are more and more often used in the equine medicine. An overview presents following methods: ACP, ACS, PRP and stemcells. The different methods are described in a short way and their use is discussed controversially.*

**Key words:** *Keywords: irap, orthokine, ACS, ACP, bone marrow, stem cells, acelere f PRP*

Folgende Methoden sollen vorgestellt werden:

- ▷ ACP (Autologes Conditioniertes Plasma)
- ▷ ACS (Autologes Conditioniertes Serum)
- ▷ PRP (Platelet Rich Plasma)
- ▷ Stammzellen
  - Knochenmark
  - Embryonal
  - Fett

### **ACP (Autologes Conditioniertes Plasma)**

Diese noch sehr neue Methode basiert auf der einfachen Isolierung von Plasma und das Reinjizieren in verschiedene anatomische Strukturen. Wissenschaftliche Studien dafür fehlen bisher in der Human- und Tiermedizin. Technisch wird das Plasma mit Hilfe einer speziellen Doppelspritze (Fa. Arthrex Bio Systems) hergestellt. In die äußere Spritze wird 1 ml ACD-A als Antikoagulans aufgezogen und dann unter sterilen Kautelen das venöse Blut entnommen und anschließend mit einer Verschlussklappe verschlossen. Danach wird die Spritze rotiert, um Blut und ACD-A zu vermischen. Dann wird die Doppelspritze in einen speziellen sterilisierten Aufsatz in eine Zentrifuge verbracht und bei 1.500 U/min für 5 Minuten zentrifugiert. Anschließend wird der Kolben der kleinen, innenliegenden Spritze langsam gezogen und dabei der Überstand isoliert. In der Regel erhält man 2–3 ml Überstand. Die kleine Spritze wird abgetrennt und das Plasma steht zur Injektion bereit.

Der konkrete Wirkungsmechanismus ist noch unklar und die Herstellerfirma vermutet, dass verschiedene Wachstumsfaktoren durch die Freisetzung aus Thrombozyten in höherer Konzentration vorliegen. Folgende Faktoren wurden bei einer firmeninternen Studie an 12 Menschen signifikant erhöht: PDGF AB & BB, TGF B1 & B2, IGF, EGF und VEGF.

### ACS (Autologes Conditioniertes Serum)

Die Verwendung von ACS beim Pferd wird seit 2003 beschrieben. In der Pferdemedizin kommt das Produkt IRAP der Fa. Orthogen (Abb. 1) zum Einsatz. Das Prinzip der Methode ist die Anreicherung von diversen Blutbestandteilen inkl. Anti-Interleukin IL-1RA und Wachstumsfaktoren im patienteneigenen Blut mit Hilfe einer speziellen Spritze und einer Bebrütung. Wissenschaftliche Studien, inkl. kontrollierte Studien



Abb. 1: Orthokin® zur Herstellung von Autolog Conditioniertem Serum aus Patientenblut.

beim Menschen und Pferd (z. B. Frisbie et.al. 2006) liegen vor und haben die Wirksamkeit nachgewiesen. Technisch wird eine spezielle 60 ml Spritze verwendet, die zum Teil mit speziell beschichteten Glasperlen gefüllt ist. Unter sterilen Kautelen wird dem Patienten mit der Spritze aus der Vene 50 ml Blut abgenommen und diese dann mit der sterilen Kappe verschlossen. Danach wird die gesamte Spritze für 24 Stunden bei 37 °C im Wärmeschrank bebrütet. Anschließend wird die Spritze in einem speziellen Aufsatz für 10min bei 3.700 U zentrifugiert. Danach wird das abgesetzte Serum aufgezo-gen und durch einen 2 µm Filter in 2 ml Portionierungsspritzen abgepackt. Das Produkt ist damit zur Injektion fertig oder kann für max. 8 Monate bei minus 18 °C gelagert werden. Es stehen insgesamt pro 60 ml Originalspritze in individueller Ab-

hängigkeit 10 bis 15 Portionen á 2 ml zur Verfügung. Konkrete Therapiepläne und eine ausführliche Indikationstabelle werden vom Hersteller angeboten. Hauptindikation sind Gelenkerkrankungen mit Knorpelschäden, Bursa- und Sehnen-scheidenentzündungen, Sehnenkrankungen und subchondrale Probleme. In der Literatur wurden bisher keine negativen Nebenwirkungen beschrieben.

### PRP (Platelet Rich Plasma)

Der Einsatz von PRP-Konzentraten wird in der Humanmedi-zin schon seit vielen Jahren und in der Pferdemedizin seit ca. 5 Jahren durchgeführt. Verschiedene Anbieter bieten entsprechende Sets zur Gewinnung des PRP Konzentrates an. Die Konzentration von Thrombozytenaggregaten mit weiteren Komponenten, wie Wachstumsfaktoren und nützlichen Zyto-kinen führt zu einer Aktivierung der Thrombozyten. In der human- wie tiermedizinischen Literatur werden die positiven Ergebnisse beschrieben. Eine klare Zuordnung dieser Ergeb-nisse zu den beteiligten Komponenten konnte bisher nicht einwandfrei erfolgen. In der Tiermedizin sind in Deutschland nach Wissen des Autors im Augenblick zwei Sets zur Gewin-nung der Komponenten erhältlich. Das Produkt Osteokin der Fa. Orthogen und das Acelere fPRP System der Fa. Vetcell. Das Osteokin-Set besteht aus zwei speziellen Beuteln in denen über zweifache Zentrifugation das PRP soweit wie möglich konzentriert werden kann. Dafür ist ein spezieller Zentrifugen-einsatz notwendig, der zum Teil mit der Zentrifugenausrü-stung des Produktes IRAP identisch ist. Nach Herstellung die-ses Konzentrates muss es direkt verwendet werden. Eine Aufbewahrung ist nicht möglich.

Beim Acelere fPRP System der Fa. Vetcell handelt es sich um einen Kit, das ohne Zentrifuge auskommt. Hier erfolgt eine Abtrennung der Thrombozyten über eine Herausfilterung von Thrombozyten. Hierzu wird dem entnommenen Blut eine spezielle sogenannte „Harvest“-Mischung hinzugefügt, die dafür sorgt, dass die Thrombozyten im Filter hängen blei-ben. Diese Prozedur dauert ca. 10 Min. und man gewinnt ca. 7 ml Konzentrat. Ob durch die Beimischung der unbekann-ten Substanz, das Gesamtgemisch noch autolog und frei von Zusatzstoffen ist, bleibt unbekannt. Auch dieses Gemisch muss unmittelbar nach Gewinnung verabreicht werden. Hauptindi-kation sind Sehnen und manchmal Gelenke.

### Stammzellen

#### Knochenmark

Der Einsatz von Knochenmark zur Therapie beim Pferd wird schon seit 8 Jahren durchgeführt. Mit Hilfe von speziellen In-strumenten wird aus dem Brustbein und seit kurzem auch aus dem Hüftböcker Knochenmarkssubstrat gewonnen (Abb. 2). Literatur hinsichtlich der Entnahmetechnik und von Fallberich-ten ist veröffentlicht. Das technische Verfahren besteht in ei-ner Präparation der Entnahmestelle nach sterilen Kautelen. Dann wird der Knochen mit einer speziellen Punktions- bzw. Biopsienadel eröffnet und langsam das Knochenmarkssubstrat angesogen. Vorher wurde die Spritze mit Antikoagulans ver-setzt. Je nach Pferd und Methode können bis zu 40–60 ml gewonnen werden. Dieses Substrat stellt ein Gemisch aus Blut, Fett- und Knochenzellen und auch mesenchymalen Stammzellen dar. Die Entnahme kann am stehenden oder lie-genden Pferd erfolgen. Die Entnahme muss sachgerecht er-folgen da sonst mit erheblichen Komplikationen zu rechnen ist. Standardisierte Nachweise über den Gehalt an solchen Stammzellen gibt es nicht, aber es wird nur von geringen Mengen im Gesamtvolumen ausgegangen. In der Vergangen-





Abb. 2: Entnahme von Knochenmarksubstrat aus dem Brustbein.

heit wurde diese Methode in der Form verwendet, dass Teile des Substrates direkt nach der Entnahme in Band- und Sehnenprobleme wie Fesselträger- und Beugesehnendefekte eingespritzt wurde. Es wurden in Fallberichten gute Heilungsergebnisse beschrieben. In der letzten Zeit gibt es Hinweise und auch Veröffentlichungen, dass es nach solchen Injektionen zeitversetzt zu Kalzifikationen bzw. Metaplasien in den behandelten Bereichen kommen kann. Der Einsatz dieser direkten Methode geht scheinbar immer weiter zurück.

#### Knochenmark in bearbeiteter Form

Auf Grund des sehr undifferenzierten Gemisches nach der Knochenmarksentnahme wurden Weiterentwicklungen vorgenommen. So stellt das gewonnene Knochenmark das Ausgangsmaterial für die Anzüchtung von mesenchymalen Stammzellen im Labor dar (s. u.). Ein anderer Weg ist, dass gewonnene Knochenmark mit Hilfe von geeigneten PRP-Sets wie das Produkt OSTEOKIN der Fa. Orthogen schonend zu zentrifugieren und so zu konzentrieren, dass scheinbar gewebeirritierende Anteile, wie Fett- und Knochenzellen eliminiert und gewünschte Anteile von PRP, Wachstumsfaktoren und mesenchymalen Stammzellen isoliert und konzentriert werden.

#### Embryonale Stammzellen

Die Verwendung körpereigener Stammzellen ist weltweit ein Thema und vielfältiges Forschungsobjekt. Grundsätzlich ist zwischen den unterschiedlichen Stammzellenarten zu differenzieren. Embryonale Stammzellen finden zur Zeit in der Pferdeorthopädie keine direkte Verwendung. Diese Zellen bergen in sich auch das Risiko der Übertragung von Teratomen. Entsprechend der Entwicklung in der Humanmedizin wird auch in der Pferdemedizin die Gewinnung solcher embryonaler und mesenchymaler Stammzellen unmittelbar nach der Geburt aus Nabelschnurblut getestet. Forschungsergebnisse oder beschriebene Therapiemethoden mit embryonalen Stammzellen sind dem Verfasser zur Zeit nicht bekannt.

#### Mesenchymale Stammzellen

Meistens kommen die etwas ausdifferenzierteren mesenchymalen Stammzellen zum Einsatz (Abb. 3). Diese werden aus dem Knochenmark oder Fettzellen gewonnen und dann in konzentrierter Form verwendet.

Um mesenchymale Stammzellen (MSCs) aus Knochenmark zu erhalten wird wie bei der oben beschriebenen Gewinnung von Knochenmark das Brustbein oder der Hüftböcker punktiert. Das gewonnene Knochenmark wird entsprechend den Vorgaben des weiterverarbeitenden Labors gewonnen, gelagert und versandt. Zusätzlich wird auch Serum gewonnen

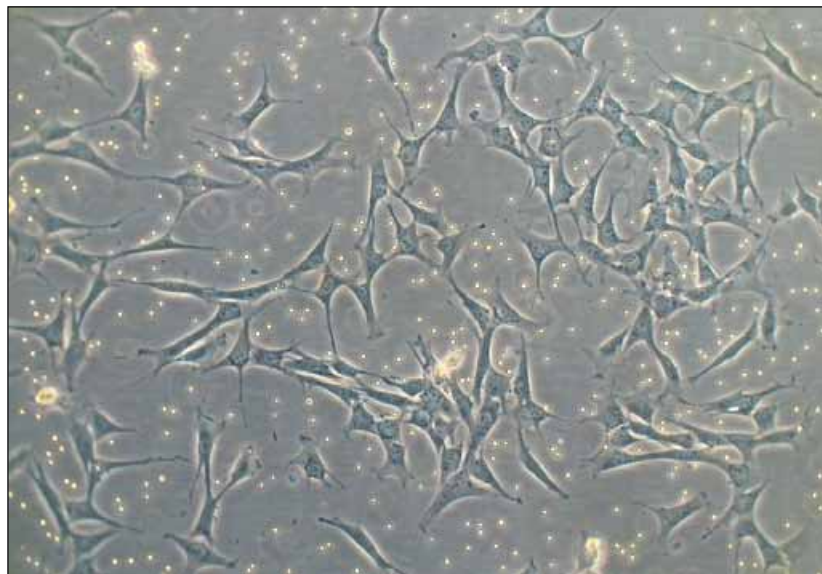


Abb. 3: Mikroskopische Darstellung von mesenchymalen Stammzellen  
Quelle: ORTHOGEN Veterinary GmbH, Düsseldorf.

und mit in das Labor geschickt. Dieses wird dann als Supernatant bezeichnet und später dem Stammzellenkonzentrat zur Injektion wieder beigemischt. Im Labor wird das Knochenmark weiterverarbeitet und eine Anzüchtung der mesenchymalen Stammzellen eingeleitet. In individueller Abhängigkeit wachsen nach ca. 2 bis 3 Wochen über 1 Millionen Stammzellen mit einem Volumen von ca. 1 ml heran, die dann wieder vom Labor zur Verfügung gestellt werden. Die Injektion in das gewünschte Gewebe (vornehmlich Sehnen) erfolgt nach den üblichen sterilen Standards.

Alternativ können Stammzellen auch aus dem Fettgewebe gewonnen werden. Dazu wird aus dem Kruppenbereich eine entsprechende Menge Fettgewebe unter sterilen Kautelen entnommen und ebenso entsprechend den Vorschriften des Labors versandt. In dem jeweiligen Labor beginnt eine Aufbereitung der Probe und eine Konzentration, der in der Gewebeprobe enthaltenen mesenchymalen Stammzellen. Diese Prozedur benötigt deutlich weniger Zeit.

Welche der beiden Methoden im direkten Vergleich besser ist, kann zur Zeit noch nicht gesagt werden. Beide Methoden sind zur Zeit auf ein Fremdlabor angewiesen und mit einem hohem Kostenaufwand verbunden.

#### Diskussion:

In Diskussionen unter Kollegen und auch auf Kongressen wird deutlich, dass diese neuen Möglichkeiten häufig miteinander verwechselt werden und außerdem immer wieder unter der Allgemeinüberschrift „Stammzellentherapie“ dem Pferdebesitzer dargestellt werden. Das ist falsch und kann auch als unseriös angesehen werden. Natürlich ist es einfacher dem

Pferdebesitzer mitzuteilen, dass sein Pferd mit Stammzellen behandelt wird anstatt ihm zu erklären, was Antinterleukin 1Ra ist und wie es wirkt. Der Pferdebesitzer glaubt auch durch die allgemeine Presse und die Diskussion über die Verwendung embryonaler Stammzellen in der humanmedizinischen Forschung in Deutschland zu wissen, was die Therapie mit Stammzellen bedeutet. Spätestens beim Tierarzt, der zur zweiten Meinung herangezogen wird, bekommt der Pferdebesitzer eine Erklärung und Erläuterung, die ihn noch mehr verwirrt und verunsichert. Daher ist es aus berufsethischen und auch wirtschaftlichen wie forensischen Gründen sinnvoll den Pferdebesitzer korrekt und umfassend aufzuklären.

Ein anderer Gesichtspunkt ist, ob wir überhaupt schon wissen inwieweit Stammzellen für sich allein überhaupt therapeutisch sinnvoll sind. Folgt man den Diskussionen auf Meetings und betrachtet man die Ware „Stammzellen“, die man vom Labor erhält, ist das eher zu bezweifeln. Das Labor stellt dem Tierarzt bei dem Knochenmarkkonzentrat mit Absicht sowohl das Stammzellenkonzentrat wie auch das Supernatant und bei dem Fettzellenkonzentrat ein Beiwerk an verschiedenen Faktoren zur Verfügung. Bei diesen Faktoren geht man zur Zeit aus, dass die wichtigsten Komponenten positive Zytokine und die verschiedenen Wachstumsfaktoren sind. Diese sind auch besonders konzentriert bei den PRP Präparaten, was als wichtiger Grund für die positiven Therapieerfolge angesehen wird. Auf den Meetings wird erläutert, dass die Stammzellen für sich allein häufig überfordert sind und die notwendigen „Informationen“ erhalten müssen, um dann in die Zellform um zu wechseln, die benötigt wird. Bei einer Injektion in einen Sehnen Schaden wünscht man sich z. B. Tenozyten und keine Chondrozyten.

Damit stellt sich die Frage: Welches ist nun die richtige Therapieform? Genau weiss das zur Zeit keiner und die Wissenschaft bemüht sich intensiv Antworten zu finden. Grundsätzlich geht aber die Tendenz dahin statt autologe Mono-Therapien die besten Kombinationen an körpereigenen Stoffen zu finden. Soll auf den Einsatz von Kortison und Hyaluronsäure verzichtet werden, sollte man sich an wissenschaftlichen Ergebnissen und beschriebenen Erfahrungswerten orientieren. Durch die Kommerzialisierung dieser Therapieidee werden immer wieder neue Apparaturen auf den Markt gebracht und wie so oft in der veterinärmedizinischen Geschichte erfolgt häufig eine Auswahl nur über den Einkaufspreis.

In der Vergangenheit haben sich die ACS- (IRAP) und PRP- (Osteokin, Acelere fPRP) Methoden als sinnvoll und wissenschaftlich nachweisbar in Ihrer Wirkung erwiesen. Die ACS Präparate sind dabei am vielseitigsten und können gut in Gelenke, Sehnencheiden und Sehnen injiziert werden. Auch PRP-Präparate können lt. Angaben von Hochschulvertretern trotz ihres Zellgehaltes in Gelenke injiziert werden. Stammzellen-Präparate können grundsätzlich auch in Gelenke verabreicht werden. Jedoch ist ein Nutzen bisher nicht nachgewiesen worden und auf Grund des Verdünnungseffektes bzw. der wahrscheinlich fehlenden Anheftung an Knorpelzellen nicht unbedingt effektiv. In den USA wird geforscht inwieweit die dauerhafte Einbringung in Knorpeldefekte möglich und sinnvoll ist. Die ACP-Präparate sind noch sehr neu auf dem Markt und es gibt keine wissenschaftlichen Ergebnisse. Obwohl die angebotene Spritze im Verhältnis zu den anderen Produkten sehr preiswert ist, muss bis zum wissenschaftlichen Nachweis ein therapeutischer Wirkungsmechanismus in Frage gestellt werden. Wenn das Reinjizieren von einfachem Plasma ohne Auftrennung oder Konzentration, wie wir es in unserem Laborröhrchen zur Plasmagewinnung schon immer hergestellt haben, wirklich einen hohen therapeutischen Effekt hat, der über der Wirkung von Hyaluronsäure und/oder Glukokortiko-

iden steht, müssen wir Schulmediziner im Nachhinein doch noch den Hut vor den Naturheilpraktikern ziehen und uns endgültig der „Eigenbluttherapie“ zuwenden.

Wichtig ist auch, dass die Tierärzte sich bewusst sind, dass diese neuen autologen Methoden alle mit deutlich mehr Aufwand als bei einer klassischen Gelenk- oder Sehnen-spritze verbunden ist und deshalb den Pferdebesitzer zum Teil erheblich mehr kostet. Die jahrelangen Erfahrungen des Autors haben gezeigt, dass der Pferdebesitzer wie seither beim Naturheilpraktiker lieber natürliche Verfahren bei seinem Tier angewendet sieht und in der Regel auch bei entsprechender Aussicht auf einen guten Erfolg bereit ist dafür einen höheren Preis zu bezahlen. Es erscheint aber wichtig zu sein, dass die Tierärzte Ihre Pferdebesitzer nicht enttäuschen indem unseriös oder mit mangelnder Aufklärung agiert wird. Das ist umso wichtiger da, ohne wenn und aber, noch klare wissenschaftliche Ergebnisse darüber, warum die Methoden und welche Komponenten dabei wirken, fehlen. Gleichzeitig sind diese Methoden bei korrekter Anwendung so arm an Nebenwirkungen, dass die Tierärzte diese zum Teil gut bis sehr gut wirkenden Therapieformen Ihren Patienten auch nicht solange vorenthalten können, bis die Wissenschaft mit Ergebnissen nachgezogen ist. ■

■ **Verfasser:**

Thomas Weinberger

Pferdeklinik Burg Muggenhausen GmbH

weinberger@pferde-klinik.info