



DER EINFLUSS VON REGENERATIVEN THERAPIEN AUF  
DIE HEILUNG DES *MUSCULUS INTEROSSEUS MEDIUS*  
BEIM PFERD:

Eine kontrollierte prospektive klinische  
und sonographische Studie

**MELANIE BANSE**

INAUGURAL-DISSERTATION zur Erlangung des Grades eines **Dr. med. vet.**  
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2011

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1<sup>st</sup> Edition 2011

© 2011 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)

Aus dem Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie  
des Fachbereiches Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Dr. Stefan Arnhold

**und**

aus dem Institut für Rechtsmedizin  
des Fachbereiches Humanmedizin  
des Universitätsklinikums Hamburg - Eppendorf

Betreuerin: Prof. Dr. med. Ute Lockemann

**Der Einfluss von regenerativen Therapien auf die Heilung des  
Musculus interosseus medius beim Pferd:**

Eine kontrollierte prospektive klinische und sonographische Studie

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades eines  
Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

**Melanie Banse**

Tierärztin aus Krefeld

Gießen 2011

Mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Martin Kramer

Gutachter/-in: Prof. Dr. Dr. Stefan Arnhold  
Prof. Dr. med. Ute Lockemann

Tag der Disputation: 16.06.2011

---

In Zusammenarbeit mit der Tierärztlichen Gemeinschaftspraxis für Pferde  
Dr. Dr. med. vet. Christina Becker



---

<b>INHALTSVERZEICHNIS</b>	I - V
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	VI
<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b>	VIII -XIV
<b>TABELLENVERZEICHNIS</b>	XV - XVI
<b>1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG</b>	1
<b>2 LITERATURÜBERSICHT</b>	4
<b>2.1. Ultrastruktur und Biochemie des Fesselträgers</b>	4
2.1.1. Anatomie	4
2.1.2. Histologie	8
<b>2.2. Mechanische Eigenschaften und Funktion des Fesselträgers</b>	12
<b>2.3. Pathologien des M. interosseus medius</b>	14
2.3.1. Definition	14
<b>2.3.2. Erkrankungsformen</b>	14
2.3.2.1. Desmitis des proximalen M. interosseus medius (PSD)	14
2.3.2.2. Desmitis des Fesselträgerkörpers (Body lesions)	16
2.3.2.3. Desmitis der Fesselträgerschenkel (Branch lesions)	16
2.3.2.4. Insertionsdesmopathie des M. interosseus medius	17
2.3.2.5. Degenerative Desmitis des M. interosseus medius (DSLSD)	18
<b>2.3.3. Ätiologie</b>	19
<b>2.3.4. Pathogenese</b>	21
<b>2.3.5. Heilung</b>	22

<b>2.4. Diagnostik bei Erkrankungen des M. interosseus medius</b>	23
<b>2.4.1. Klinische Untersuchung</b>	23
<b>2.4.2. Sonographische Untersuchung</b>	23
2.4.2.1. Technische Ausrüstung	24
2.4.2.2. Untersuchungstechnik	24
2.4.2.3. Bildinterpretation von Ultraschallbildern	25
2.4.2.4. Artefakte in der Sonographie	26
2.4.2.5. Auswertung von Ultraschallbildern	27
2.4.2.6. Darstellung des M. interosseus medius im Ultraschall	30
<b>2.4.3. Biopsie</b>	32
<b>2.5. Regenerative Therapiemaßnahmen</b>	36
<b>2.5.1. Adulte mesenchymale Stammzellen (MSC)</b>	36
2.5.1.1. Einteilung und Eigenschaften der MSC	37
2.5.1.2. Immunmodulatorische Eigenschaften der MSC	39
2.5.1.3. Einsatz von MSC bei Sehnenschäden beim Pferd	39
2.5.1.4. Allogene Transplantationsmöglichkeiten der MSC	41
<b>2.5.2. Platelet rich plasma (PRP)</b>	42
<b>2.5.3. Einsatz von regenerativen Therapien beim M. interosseus medius beim Pferd</b>	45
<b>3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN</b>	47
<b>3.1. Material und Methoden</b>	47
<b>3.1.1. Patientengut</b>	47
<b>3.1.2. Klinische Untersuchung der Probanden</b>	47
<b>3.1.3. Sonographische Untersuchung</b>	49
<b>3.1.4. Biopatientnahme</b>	52
<b>3.1.5. Applikation der Behandlungssubstanzen</b>	54
<b>3.1.6. Erstellung eines Bewegungsplans</b>	61
<b>3.1.7. Hufbeschlags-Korrektur</b>	61

---

<b>3.1.8. Kontrolluntersuchung der Probanden</b>	61
<b>3.1.9. Fragebogen</b>	61
<b>3.1.10. Statistische Methodik</b>	62
<b>4 ERGEBNISSE</b>	64
<b>4.1. Patientengut</b>	64
<b>4.2. Dauer der Erkrankung</b>	67
<b>4.3. Häufigkeitsverteilung der betroffenen Gliedmaße</b>	69
<b>4.4. Klinische Untersuchung</b>	70
<b>4.4.1. Fehlstellung der Gliedmaße</b>	70
<b>4.4.2. Schwellung</b>	71
<b>4.4.3. Lahmheitsgrad</b>	78
<b>4.5. Sonographische Untersuchung</b>	85
<b>4.5.1. Lokalisation der Läsion</b>	85
<b>4.5.2. Sonographische Befunde des M. interosseus medius</b>	87
4.5.2.1. Ursprungsbereich des M. interosseus medius	87
4.5.2.2. Body-Bereich des M. interosseus medius	90
4.5.2.3. Schenkelbereich des M. interosseus medius	91
<b>4.5.3. Zusätzliche Befunde im Ultraschall</b>	95
<b>4.5.4. Ultraschallbefunde der Nachkontrollen</b>	97
4.5.4.1. Behandlungsgruppe A	97
4.5.4.2. Behandlungsgruppe B	100
4.5.4.3. Behandlungsgruppe C	105
<b>4.5.5. Ultraschall-Score</b>	112

---

<b>4.6. Auswertung der Fragebögen</b>	114
<b>5 DISKUSSION</b>	121
<b>5.1. Zielsetzung</b>	121
<b>5.2. Kritik der Methode</b>	122
5.2.1. Patientengut	122
5.2.2. Klinische Untersuchung	122
5.2.3. Sonographische Untersuchung	123
5.2.4. Biopatientnahme	124
5.2.5. Placebo	126
5.2.6. Platelet Rich Plasma	127
5.2.7. allogene MSC	128
<b>5.3. Diskussion der Ergebnisse</b>	131
5.3.1. Patientengut	131
5.3.2. Dauer der Erkrankung	132
5.3.3. Häufigkeitsverteilung der betroffenen Gliedmaße	134
5.3.4. Fehlstellungen der Gliedmaße	134
5.3.5. Schwellung	136
5.3.6. Lahmheitsgrad	137
5.3.7. Sonographische Untersuchung	139
5.3.8. Ultraschallbefunde der Nachkontrollen	141
5.3.9. Ultraschallscore	151
5.3.10. Fragebogen	152

---

<b>5.4. Schlussfolgerungen</b>	155
<b>5.5. Ausblick</b>	157
<b>6 ZUSAMMENFASSUNG</b>	160
<b>7 SUMMARY</b>	162
<b>8 LITERATURVERZEICHNIS</b>	164
<b>9 ANHANG</b>	200
<b>9.1 Rehabilitations- Protokoll</b>	200
<b>9.2. Fragebogen</b>	201

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS****ABK.            BEZEICHNUNG**

Abb.	Abbildung
Abk.	Abkürzung
ACD	Acid Citrate Dextrose
bFGF	bovine Fibroblast Growth Factor
cm	Centimeter
COMP	Cartilage oligomeric matrix protein
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSLDD	Degenerative Suspensory Ligament Desmitis
E. coli	Escherichia coli
EGF	Epidermal Growth Factor
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FCS	Fetal Calf Serum
FGF	Fibroblast Growth Factor
HGF	Hepatocyte Growth Factor
IFN- $\gamma$	Interferon $\gamma$
IGF-I	Insulin-like Growth Factor
ISCT	International Society for Cellular Therapy
kg	Kilogramm
km	Kilometer
KMT	Klinik und Poliklinik für Knochenmarks- und Stammzelltransplantation

LH	Lahmheit
Lig.	Ligamentum
M.	Musculus
mg	Milligramm
MHC	Major Histocompatibility Complex
MHz	Megahertz
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
MSC	mesenchymale Stamm- bzw. Stromazellen
N.	Nervus
OBS	oberflächliche Beugesehne
PBS	Phosphate Buffered Saline
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PPP	Platelet Poor Plasma
PRP	Platelet Rich Plasma
PSD	Proximal Suspensory Desmitis
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TBS	tiefe Beugesehne
TGF- $\beta$	Transforming Growth Factor $\beta$
TNF- $\alpha$	Tumor Nekrose Faktor $\alpha$
UKE	Universitätsklinikum Eppendorf
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

---

**ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

<b>ABB</b>	<b>BEZEICHNUNG</b>	<b>SEITE</b>
Abb. 1:	Anatomie der palmaren Beugestrukturen des Vorderfußes des Pferdes	4
Abb. 2:	Anatomie des M. interosseus medius und seiner Endschenkel zu den proximalen Sesambeinen	6
Abb. 3:	Aufteilung des M. interosseus medius in zwei divergierende Schenkel	7
Abb. 4:	Sagittale Abbildung der Weichteilstrukturen im proximalen Teil eines Metakarpus	28
Abb. 5:	Sonographisches Bild aus dem proximalen Bereich des Metakarpus im Querschnitt	29
Abb. 6:	schematische Darstellung der Zoneneinteilung der distalen Gliedermaße	50
Abb. 7:	Biopsienadel der Firma „Dispomed Witt oHG“	52



---

Abb. 8:	Halbprofilaussparung der Biopsienadel	52
Abb. 9:	Plastikbecher zur Herstellung von autologem Thrombozytenkonzentrat aus dem entnommenen Pferdeblut von der Firma „Harvest Technologies®“	55
Abb. 10:	Zentrifuge der Firma „Harvest Technologies®“ zur Herstellung des autologen Thrombozytenkonzentrates	55
Abb. 11:	Resuspension des Thrombozytenpellet mit 2ml PPP	56
Abb. 12:	Morphologie der MSC des Spenderpferdes	58
Abb. 13:	Differenzierungspotential der equinen MSC	59
Abb. 14:	Altersverteilung im Gesamtkollektiv	64
Abb. 15:	Altersverteilung in den 3 Behandlungsgruppen	65
Abb. 16:	Prozentuale Verteilung der Pferde hinsichtlich ihrer Nutzung	66
Abb. 17:	Vergleich der Erkrankungsdauer in den 3 Gruppen	68

---

Abb. 18:	Hyperextension im Fesselgelenk bei einem 12-jährigen Holsteiner Wallach und einer 22-jährigen Mecklenburger-Stute	71
Abb. 19:	Schwellung in den 3 Gruppen im zeitlichen Verlauf	75
Abb. 20:	Lahmheitsgrade in den 3 Gruppen im zeitlichen Verlauf	82
Abb. 21:	Longitudinale und transversale Sonogramme des M.interosseus medius-Ursprungs vom rechten Vorderbein des Studienpferdes Nr. 2	88
Abb. 22:	Sonographische Bilder im Längs- und Querschnitt der linken Hintergliedmaße eines 10-jährigen Warmblut-Wallachs (Studienpferd Nr.4)	88
Abb. 23:	Sonographische Bilder im Längs- und Querschall der linken Hintergliedmaße eines 15-jährigen Warmblut-Wallachs (Studienpferd Nr.26)	89
Abb. 24:	Ultraschallbilder des Ursprungsbereiches des M.interosseus medius im Querschnitt	89
Abb. 25:	Ultraschallbilder des Ursprungsbereiches des M.interosseus medius im Längsschnitt	90

- 
- Abb. 26: Longitudinale und transversale Sonogramme  
des Body-Bereiches (Region 3-4) eines  
20-jährigen Hannoveraner-Wallachs 91
- Abb. 27: transversale Ultraschallbilder des medialen Schenkels  
des M.interosseus medius eines 15-jährigen Andalusier-Mix  
und eines 7-jährigen Warmblutwallachs 92
- Abb. 28: transversale und longitudinale Ultraschallbilder einer  
17-jährigen Hannoveraner-Stute (Studienpferd Nr.25) 93
- Abb. 29: medialer Schenkel eines 8-jährigen Warmblut-Wallachs  
(Studienpferd Nr.18) im Querschall und in der Schrägprojektion 93
- Abb. 30: Sonogramme des Schenkelbereiches des M.interosseus  
medius im Querschall eines 11-jährigen Warmblutwallachs  
und eines 19-jährigen Andalusiers 94
- Abb. 31: Longitudinale und transversale Sonogramme des  
medialen Schenkels eines 19-jährigen Andalusier-Wallachs  
in seinem Ansatzbereich am medialen Gleichbein 94
- Abb. 32: sonographischer Querschall der distalen Gliedmaße mit  
Nebenbefunden 95

---

Abb. 33:	Sonogramme der distalen Gliedmaße im Längsschall mit Nebenbefunden	96
Abb. 34:	Sonogramme der Schenkel des M.interosseus medius in der Schrägprojektion und im Querschall	96
Abb. 35:	transversale Sonogramme in Region 5 des linken Vorderbeins des Studienpferdes Nr.18	98
Abb. 36:	transversale Sonogramme der Region 5 im Bereich des medialen Schenkels des M.interosseus medius des linken Hinterbeins	99
Abb. 37:	Der laterale Schenkel im Querschall auf gleicher Höhe zum Vergleich	99
Abb. 38:	longitudinale Sonogramme des linken Hinterbeins in Region 5 des Studienpferdes Nr.25	100
Abb. 39:	Longitudinale Ultraschallaufnahmen in Region 5 des lateralen Schenkels des M.interosseus medius des Studienpferdes Nr.20	101
Abb. 40:	der laterale Schenkel des M.interosseus medius in der Schrägprojektion	102

---

Abb. 41:	die longitudinale Sonogramme zeigen die Ursprungsregion des M.interosseus medius des linken Hinterbeines von Studienpferd Nr. 23	103
Abb. 42:	transversale Sonogramme der Ursprungsregion des M.interosseus medius der linken Hintergliedmaße von Studienpferd Nr. 23	103
Abb. 43:	sonographische Bilder im Längsschall im zeitlichen Verlauf vom Ursprungsbereich des M.interosseus medius	104
Abb. 44:	Ursprungsbereich des M.interosseus medius im Querschall zu allen 3 Untersuchungszeitpunkten	105
Abb. 45:	Longitudinale Sonogramme des lateralen Schenkels des M.interosseus medius im zeitlichen Verlauf	106
Abb. 46:	der laterale Schenkel des M.interosseus medius im Querschnitt zu allen 3 Untersuchungszeitpunkten	107
Abb. 47:	beide Schenkel des M.interosseus medius im Vergleich auf Höhe der Veränderung des lateralen Schenkels bei der 2. Kontrolluntersuchung	108

Abb. 48:	longitudinale Sonogramme des Body-Bereiches der rechten Vordergliedmaße zu allen 3 Untersuchungszeitpunkten	108
Abb. 49:	der Body-Bereich des M.interosseus medius im Querschall zum Zeitpunkt 0, nach 6 und 12 Wochen	109
Abb. 50:	Sonogramme des lateralen Fesselträgerschenkels im Längsschall zu allen 3 Untersuchungszeitpunkten	110
Abb. 51:	der laterale Schenkel des M.interosseus medius der rechten Hintergliedmaße im Querschall zum Zeitpunkt 0, 6 und 12 Wochen nach Behandlung	110
Abb. 52:	der laterale Schenkel der rechten Hintergliedmaße in Schrägprojektion zu allen 3 Untersuchungszeitpunkten	111
Abb. 53:	Ultraschall-Score in den 3 Gruppen im zeitlichen Verlauf	114
Abb. 54:	exemplarische elektronenmikroskopische Abbildung eines gesunden M. interosseus medius des Pferdes an der Vordergliedmaße	157
Abb. 55:	exemplarisches elektronenmikroskopisches Bild eines gesunden M. interosseus medius des Pferdes an der Hintergliedmaße	158

**TABELLENVERZEICHNIS**

<b>TAB</b>	<b>BEZEICHNUNG</b>	<b>SEITE</b>
Tab. 1:	Einteilungsschema der Lahmheitsgrade	48
Tab. 2:	Einteilungsschema des Läsionsausmaßes	51
Tab. 3:	Behandlungsgruppen	64
Tab. 4:	Geschlechtsverteilung in den 3 Gruppen und im Gesamtkollektiv	66
Tab. 5:	Gewichtsverteilung in kg in den 3 Gruppen und im Gesamtkollektiv	67
Tab. 6:	Erkrankungsdauer in den 3 Gruppen und im Gesamtkollektiv	67
Tab. 7:	Betroffene Gliedmaße in den 3 Gruppen und im Gesamtkollektiv	69
Tab. 8:	Fehlstellung in den 3 Gruppen und im Gesamtkollektiv	70
Tab. 9:	Schwellung in den 3 Gruppen bei Eingangsuntersuchung (t1)	72
Tab. 10:	Schwellung in den 3 Gruppen bei der 1. Nachkontrolle (t2)	73
Tab. 11:	Schwellung in den 3 Gruppen bei der 2. Nachkontrolle (t3)	74
Tab. 12:	Schwellung in den 3 Gruppen bei Eingangsuntersuchung (t1)	76
Tab. 13:	Schwellung in den 3 Gruppen bei der 1. Nachkontrolle (t2)	76
Tab. 14:	Schwellung in den 3 Gruppen bei der 2. Nachkontrolle (t3)	76
Tab. 15:	Kruskal – Wallis – Test (Gruppenvariable: Behandlungsgruppe)	77
Tab. 16:	Lahmheitsgrad in den 3 Gruppen bei Eingangsuntersuchung (t1)	78
Tab. 17:	Lahmheitsgrad in den 3 Gruppen bei der 1. Nachkontrolle (t2)	79
Tab. 18:	Chi – Quadrat – Test	80
Tab. 19:	Lahmheitsgrad in den 3 Gruppen bei der 2. Nachkontrolle (t3)	81
Tab. 20:	Lahmheitsgrad in den 3 Gruppen bei Eingangsuntersuchung (t1)	83

Tab. 21: Lahmheitsgrad in den 3 Gruppen bei der 1. Nachkontrolle (t2)	83
Tab. 22: Lahmheitsgrad in den 3 Gruppen bei der 2. Nachkontrolle (t3)	84
Tab. 23: Kruskal–Wallis–Test (Gruppenvariabel: Behandlungsgruppe)	84
Tab. 24: Lokalisationen der Läsion in den 3 Gruppen	86
Tab. 25: Ultraschall-Score in den 3 Gruppen bei Eingangsuntersuchung (t1)	112
Tab. 26: Ultraschall-Score in den 3 Gruppen bei der 1. Nachkontrolle (t2)	112
Tab. 27: Ultraschall-Score in den 3 Gruppen bei der 2. Nachkontrolle (t3)	113
Tab. 28: Kruskal–Wallis–Test (Gruppenvariabel: Behandlungsgruppe)	113
Tab. 29: Auswertung des Fragebogens der Behandlungsgruppe A	116
Tab. 30: Auswertung des Fragebogens der Behandlungsgruppe B	118
Tab. 31: Auswertung des Fragebogens der Behandlungsgruppe C	119



## 1. Einleitung und Zielsetzung

Die Desmitis des M. interosseus medius stellt in der Pferdeorthopädie ein häufig vorkommendes Problem dar (Dyson et al. 2002, Lischer et al. 2006) und ist oft der Grund für Ausfall oder sogar Euthanasie des Pferdes. Die Ursache für Erkrankungen des M. interosseus medius sind einmalige oder wiederholte Traumen, die fibrilläre (Mikro-) Läsionen hervorrufen (Schneider 2006). Die folgende Entzündungsreaktion, mit Flüssigkeitsaustritt und zellulärer Reaktion, schwächen das Kollagengerüst. Beim nächsten Insult wird der Schaden entsprechend größer, bis keine Heilung ad integrum mehr möglich ist. Im Rahmen der unbeeinflussten Fesselträgerheilung kommt es dann durch die Proliferation und Einwanderung von Fibroblasten zur Ausbildung eines kollagenen Narbengewebes (Stashak 1989, Smith 2002). Dieses Ersatzgewebe ist hinsichtlich seiner Elastizität und Stärke nicht vergleichbar mit dem natürlichen Gewebe (Smith 2002, Kall et al. 2004). Der Verlust an Stabilität, Elastizität und Homogenität kann zu erheblichen Funktionsbeeinträchtigungen führen und prädisponierend für ein Rezidiv sein (Gibson et Steel 2002). Band- und Sehnenheilung bedeutet demnach – auch unter optimalen Bedingungen - Reparatur und nicht Regeneration (Silbersiepe et al. 1986, Bosch 2003).

Therapien von Sehnen- und Bänderkrankungen, wie Brennen, Blistern, Sehnen-Splitting und Desmotomien von Unterstützungsbändern, haben nach anfänglichem Enthusiasmus, genau wie Injektionen mit Kortikosteroiden, Hyaluronsäure und Glukosaminoglykanen, unbefriedigende Ergebnisse geliefert. In jüngster Zeit werden aus diesem Grund vermehrt neue Therapieansätze entwickelt (Künneke et al. 2008). Das sogenannte „*tissue engineering*“ ist ein Forschungsgebiet, basierend auf der Verwendung von Zellen, biologischen Faktoren und Biomaterialien – alleine oder in Kombination - mit dem Ziel, zerstörtes Sehngewebe zu regenerieren (Kall et al. 2004, Koch et al. 2009). Grundlage dessen sind unter anderem nicht-hämatopoetische Knochenmarkszellen, die nicht nur die Fähigkeit zur Selbsterneuerung, sondern auch ein multipotentes Differenzierungspotential aufweisen. In der Literatur werden diese Zellen unter dem Akronym *MSC* immer noch verschieden als *mesenchymale Stammzellen* oder auch *mesenchymale Stromazellen* beschrieben. Durch den Einsatz von adulten *MSC*, rückt das Ziel der vollständigen funktionellen und strukturellen Wiederherstellung in greifbare Nähe (Bosch 2003). Adulte *MSC* können unter anderem zu Fibroblasten, Osteoblasten und Adipozyten differenzieren (Fortier et al. 1998, Koerner et al. 2006, Arnhold et al.

2007). Diese Zellen synthetisieren Kollagen, Proteoglykane, Zytokine und Gewebsenzyme. Damit sind sie für die Gewebeheilung von essentieller Bedeutung (Bosch et al. 2010). Aufgrund ihrer Multipotenz, ihres Proliferations- und Migrationsverhaltens sind MSC als Quelle von Fibroblasten bei der Abheilung von Sehnenschäden vielversprechende Zellen (Bosch 2003, Arnhold et al. 2007, Giovannini et al. 2008).

Die Implantation von kultivierten MSC in Läsionen entzündeter Fesselträgeräste zeigte Anzeichen verbesserter Heilung und Bildung sehnenähnlichen Gewebes (Mountford et al. 2006). Es wird angenommen, dass die eingespritzten Zellen zu einer natürlichen Regeneration des geschädigten Gewebes führen und die Bildung von weniger belastbarem Ersatzgewebe (Narbengewebe) vermeiden (Faulstich et al. 2009). So setzen Forscher große Hoffnungen in MSC für ihren therapeutischen Einsatz beim Pferd (Koch et al. 2008, Frisbie et al. 2010).

Seit einigen Jahren wird auch Platelet Rich Plasma (PRP) in der Pferdemedizin verwendet, hier unter anderem auch im Rahmen der Band- und Sehnenheilung. PRP bezeichnet ein Ultrakonzentrat von Thrombozyten, die eine hohe Konzentration an Wachstumsfaktoren enthalten (Waselau et al. 2008). In vitro Studien über den Effekt von PRP auf explantiertes Gewebe aus equinen Bändern und Sehnen demonstrierten die gesteigerte Transkription von anabolen Genen sowie die Sekretion von bestimmten Proteinen, wie dem *Cartilage oligomeric matrix protein* (COMP) (Murphy et al. 1997, Smith et al. 2006, Schnabel et al. 2007, Schnabel et al. 2008).

Bei vielen Therapien fehlt jedoch die genaue Überprüfung der Resultate (Geyer 2006). Der Effekt von sogenannten „stammzellbasierenden“ Therapien und anderen Konzepten der regenerativen Medizin wurde bisher nicht ausreichend in kontrollierten Studien beim Pferd demonstriert (Koch et al. 2009). Im Hinblick auf einen routinemäßigen Einsatz von MSC in der Pferdemedizin steht eine starke Forderung nach kontrollierten, gut geplanten Studien im Raum (Koch et al. 2009, Goletz 2009). Die überwiegende Zahl der Studien über den klinischen Einsatz von MSC bei Sehnenschäden beim Pferd wurde an der oberflächlichen Beugesehne durchgeführt. Hingegen gibt es nur wenige Versuche, neue regenerative Therapiekonzepte bei Pferden mit einer Desmitis des M. interosseus medius anzuwenden.

In der vorliegenden Studie soll das Heilungsverhalten des M. interosseus medius des Pferdes unter dem Einfluss von equinen MSC sowie PRP klinisch und ultrasonographisch untersucht und anhand einer Kontrollgruppe verglichen werden.

Bisher wird den Pferden, bei denen eine „Stammzelltherapie“ mit isolierten, kultivierten MSC angewendet werden soll, Knochenmark aus dem Sternum oder dem Beckenkamm entnommen (Smith et al. 2003, Arnhold et al. 2007, Hopper 2007, Lactignola et al. 2008, Schnabel et al. 2009, Colleoni et al. 2009). Die Punktion des Brustbeins geschieht entweder in Vollnarkose oder unter Sedation und Lokalanästhesie am stehenden Pferd. Diese Prozedur zur Gewinnung der mesenchymalen Zellen stellt für das Pferd einen invasiven Eingriff dar, der auch seine Risiken birgt (Durando et al. 2006). Zum einen sind dies die allgemein bekannten Risiken einer Vollnarkose. Zum anderen müssen beim Eingriff am stehenden Pferd noch höhere Risiken in Kauf genommen werden. Durch mögliche Abwehrreaktionen des Pferdes kann es zu einem Abrutschen der Punktionskanüle kommen, was aufgrund der nahen anatomischen Lage zum Herzbeutel lebensbedrohliche Folgen haben kann. Darüberhinaus ist solch eine aufwendige Behandlung mit hohen Kosten um die 1000 bis 1500 Euro verbunden.

Daher stellt sich die Frage, ob dieser invasive Eingriff nicht umgangen werden kann, indem equine MSC anstatt per autologe als allogene Transplantation in die Sehne injiziert werden. Da MSC die Proliferation von T-Zellen nicht stimulieren und sogar hemmen (Niemeyer et al. 2004, Aggarwal et al. 2005, Caplan et al. 2006, Caplan 2007, Guest et al. 2008, Xue et al. 2010), sollte dies ohne eine immunologische Abwehr- und Abstoßungsreaktion möglich sein. Zudem konnten Guest et al. (2008) und Del Bue et al. (2008) in ihren Studien zur Behandlung von Schäden der oberflächlichen Beugesehne beim Pferd keine sichtbare zellvermittelte Immunreaktion auf allogene MSC bei einem der Studienpferde beobachten. Durch diese Möglichkeit könnte die „Stammzelltherapie“ in Zukunft patienten- und besitzerfreundlicher sowie praxisorientierter durchgeführt werden. Aus diesem Grunde wurden in der vorliegenden Studie allogene adulte MSC verwendet.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1. Ultrastruktur und Biochemie des Fesselträgers (M. interosseus medius)

#### 2.1.1. Anatomie

Eine Voraussetzung zum Verständnis von Läsionen und Dysfunktionen ist eine detaillierte Kenntnis der Anatomie der relevanten lokomotorischen Strukturen (Rooney 1973).

Der Fesseltrageapparat besteht aus folgenden Bestandteilen: dem M. interosseus medius, dem Ligamentum metacarpointeresamoideum, den mittleren Sesambeinbändern mit den darin eingebetteten Gleichbeinen sowie den drei distalen Sesambeinbändern (Kainer 1989).

Der M. interosseus medius ist der Hauptbestandteil des Fesselträgers (Budras et al. 2000, Schulze et al. 2008) und kann in drei Bereiche unterteilt werden: einen proximalen Anteil, einen Körper und in die Schenkel (Dyson et al. 2002).

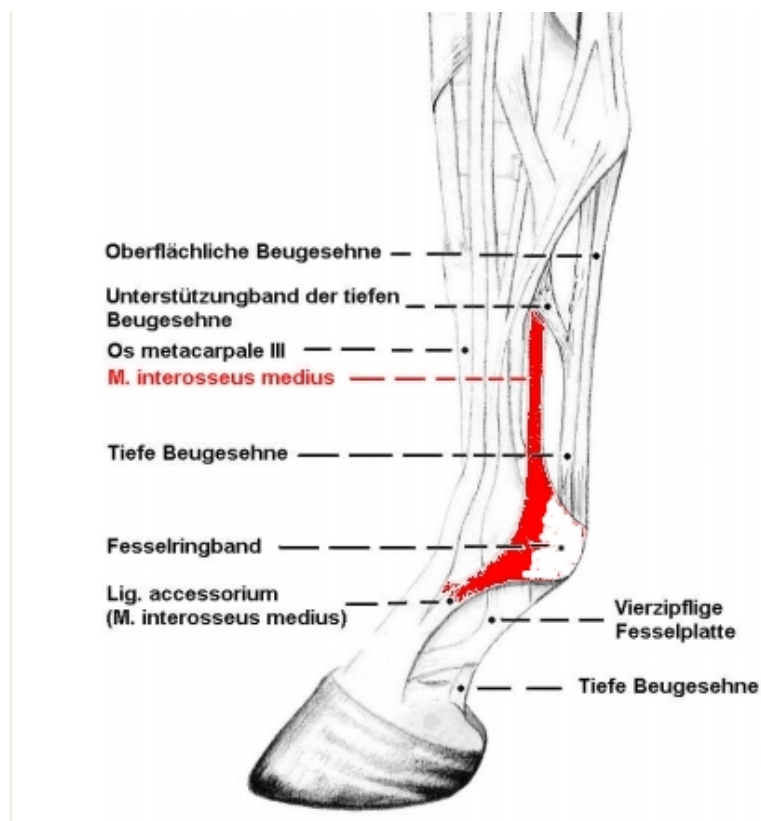


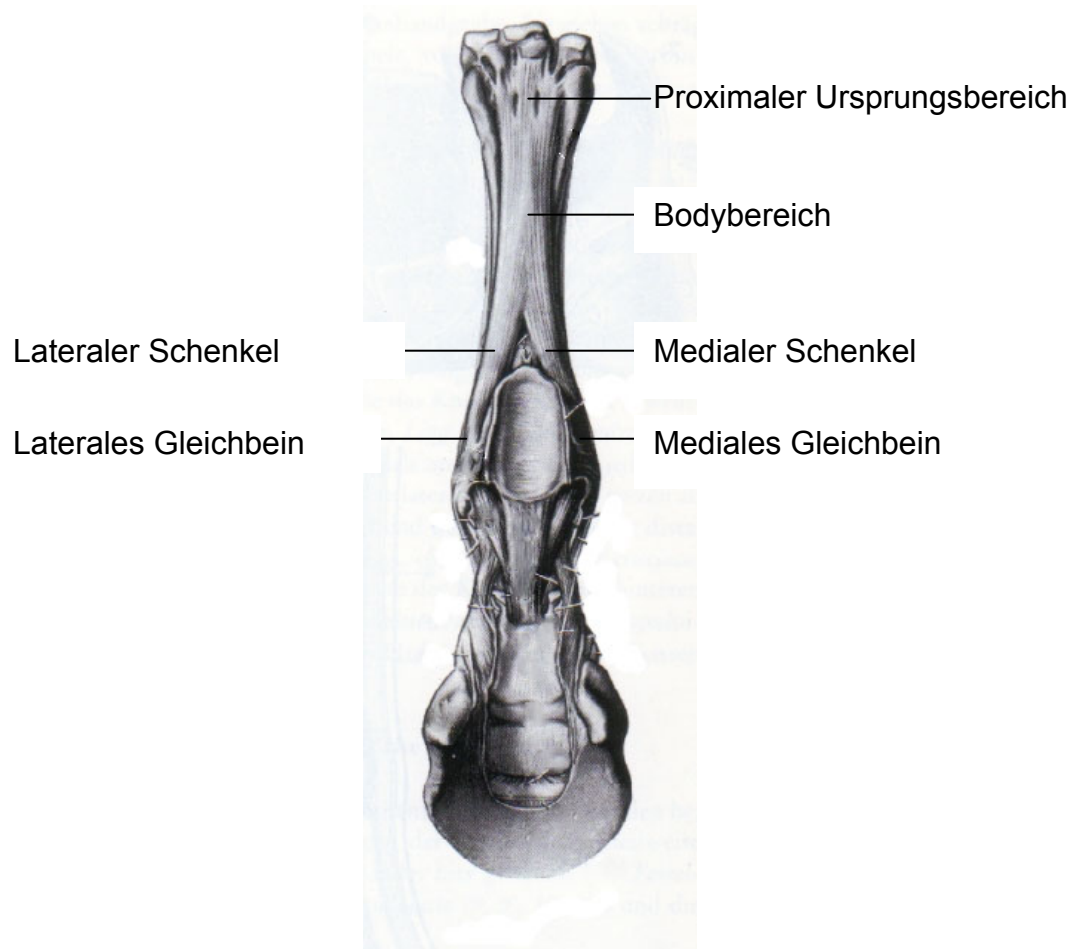
Abb.1: Anatomie der palmaren Beugestrukturen des Vorderfußes des Pferdes.

Lateralansicht (modifiziert nach Nickel et al. 2001)

Die vorliegende Studie befasst sich ausschließlich mit dem M. interosseus medius.

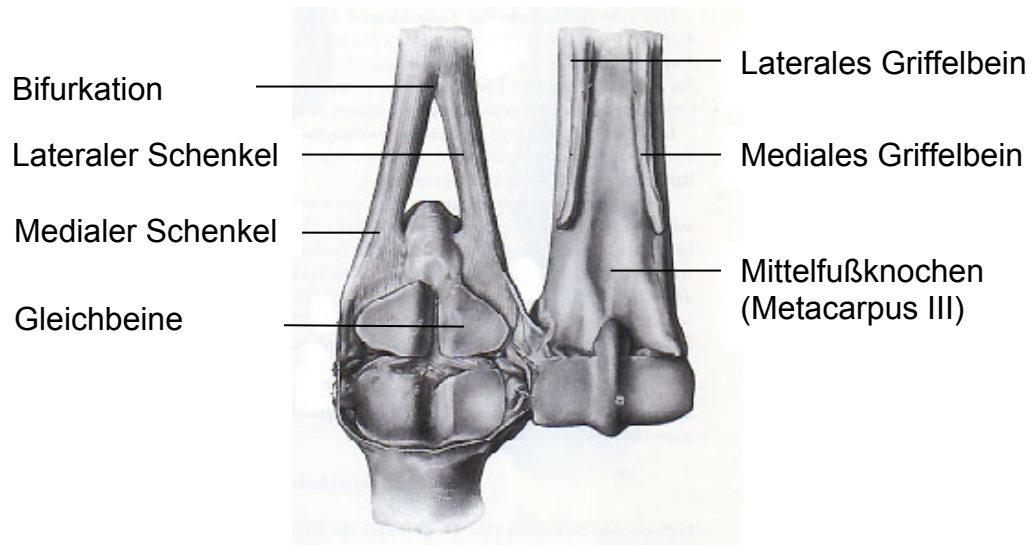
An der Vordergliedmaße ist der proximale Anteil unvollständig durch Bindegewebe, Fett und neurovaskuläre Strukturen in einen medialen und lateralen Anteil gespalten, wobei der laterale Anteil dicker ist als der mediale (Bischofberger et al.2006). Der M. interosseus medius entspringt demnach in den Vordergliedmaßen mit zwei Schenkeln (Wilson et al.1991, Denoix 1994b), die sich schnell vereinigen. An der Hintergliedmaße ist diese Teilung weniger offensichtlich (Dyson et al.2002), und Bischofberger et al. (2006) konnten hier keinen signifikanten Unterschied in der Dicke zwischen dem lateralen und medialen Anteil feststellen.

An den Vordergliedmaßen entspringt der M. interosseus medius im palmaren Bereich des proximalen Endes des Os metacarpale III (Röhrbein) (Stashak 1989, Wilson et al. 1991, Dyson et al. 1995, Budras et al. 2000, Nickel et al. 2001) sowie an der distalen Reihe der Karpalknochen (König et al. 2005, Bischofberger et al. 2006). Dieser ist nach Wilson et al. (1991) variabel und weniger umfangreich. Einige Studien postulieren einen weiteren Ursprung am Lig. Carpi radiatum (Budras et al. 2000, Nickel et al.2001, Dyson et al.2002). Diese Anheftung konnte durch Bischofberger et al. (2006) nicht festgestellt werden.



**Abb.2: Anatomie des M. interosseus medius und seiner Endschenkel zu den proximalen Sesambeinen. Palmaransicht des linken Vorderfußes des Pferdes (modifiziert nach Nickel et al. 2001)**

Von der proximalen Insertion verläuft der M. interosseus medius als einheitliche kräftige Bandplatte zwischen den beiden Griffelbeinen bis zum distalen Drittel der Gliedmaße (Nickel et al. 2001), wo er sich in zwei Schenkel aufteilt. Die Höhe dieser Aufteilung in zwei divergierende Schenkel ist variabel und unterscheidet sich individuell unter den Pferden (Denoix 1994b, Dyson et al.2002). Jeder Schenkel setzt an der abaxialen Oberfläche des korrespondierenden Gleichbeins an (Dyson et al.2002) und gibt einen dünnen Unterstützungsschenkel an die gemeinsame Strecksehne ab (Nickel et al.2001).



**Abb.3: Aufteilung des M. interosseus medius in zwei divergierende Schenkel. Fesselgelenk des linken Vorderfußes des Pferdes. Mittelfußknochen heraus geklappt (modifiziert nach Nickel et al. 2001)**

In der Vordergliedmaße hat der M. interosseus medius im Querschnitt eine charakteristische Form. Er ist hier flach oval (Bischofberger et al. 2006) bis rechteckig (Denoix 1994b). Im proximalen Bereich ist der mediale Anteil der unterteilten Struktur eher breit und flach, wohingegen der laterale Anteil dick und rund ist (Wilson et al. 1991, Bischofberger et al. 2006).

Makroskopisch unterscheidet sich der M. interosseus medius der Hintergliedmaße anatomisch leicht von der Vordergliedmaße. Anatomische Studien stimmen generell damit überein, dass sich der M. interosseus medius an der Hintergliedmaße hauptsächlich an der proximalen plantaren Seite des Metatarsus III sowie mit einigen Fasern an die distale Reihe der Tarsalknochen anheftet (Denoix 1994b, Dyson et al. 1995, Nickel et al. 2001, Budras et al. 2000, Bischofberger et al. 2006). Schulze et al. (2008) beschreiben in ihrer Studie zur klinisch-funktionellen Anatomie des M. interosseus medius der Hintergliedmaße eine lange zusätzliche Ursprungssehne, die am Calcaneus und am Lig. plantare longum beginnt, über das mediale Viertel des 4. Tarsalknochens zieht und mit der kurzen Ursprungssehne fusioniert. Der M. interosseus medius der Hintergliedmaße ist im Vergleich zur Vordergliedmaße runder und relativ dünn (Wilson et al. 1991, Denoix 1994b, Bischofberger et al. 2006). Er verläuft auch hier zwischen dem 2. und 4. Metatarsalknochen, ist allerdings leicht zur

lateralen Seite des Metatarsus III verlagert (Bischofberger et al.2006). Während seines Verlaufes an der plantaren Fläche des Metatarsus wird der Fesselträger auch hier von der oberflächlichen und tiefen Beugesehne bedeckt, bis er sich im distalen Drittel in seine zwei Schenkel aufteilt.

### **2.1.2. Histologie**

Der innere Aufbau des M. interosseus medius zeigt eine charakteristische Struktur (Bischofberger et al.2006). Die Grundeinheit besteht aus Sehnengewebe, das sich aus Bündeln eng aneinander liegender Kollagenfibrillen zusammensetzt (Soffler et al.2006). Diese weisen einen parallelen, gewundenen Verlauf in Sehnenlängsrichtung auf und verleihen der Sehne ihre Zugfestigkeit (Williams et al.1980). In den Spalten zwischen den Kollagenfaserbündeln liegen ebenfalls in parallelen Reihen angeordnete Sehnenfibroblasten oder Tendozyten (Williams et al.1980, McIlwraith 2002). Sie zählen zu den zellulären Bestandteilen. Die Fibroblasten sind die aktivierte Form der Sehnenzelle. Sie haben eine hohe Stoffwechselaktivität und ihre Leistung besteht in der Synthese von Bindegewebsproteinen (Silver et al. 1983). Die Tendozyten sind ausgereifte Zellen des Sehnengewebes und zeigen eine geringe Stoffwechselaktivität (Williams et al.1980). Normale ausgewachsene Sehnen bestehen überwiegend aus dem Protein Kollagen Typ I. Andere Kollagentypen wie Typ III, Typ IV, Typ V, Typ VI und Typ VII finden sich ebenfalls, aber mit deutlich geringerem Anteil (Goodship et al. 1994, Birch et al. 1999). Das Kollagen Typ I weist eine komplexe Struktur auf. Es besteht aus zwei identischen  $\alpha 1$ -Ketten und einer  $\alpha 2$ -Kette, die zusammen eine Tripelhelix sowie die straffen, dichtgepackten sogenannten Kollagenfibrillen bilden (Williams et al.1980). Etliche Fibrillen sind zu einer Faser gebündelt. Mehrere Fasern vereinigen sich dann zu Primärbündeln, von denen wiederum ein Bündnis ein Sekundärbündel bildet, welches wiederum von einer lockeren Bindegewebsschicht umgeben ist. Die linearen Fibrillen des Kollagentyps I sind parallel angeordnet und verleihen dem Gewebe eine hohe Zugfestigkeit bei begrenzter Elastizität (Williams et al. 1980). Das Kollagen-Typ III ist beim Pferd durch eine dünne, locker angeordnete Fibrille gekennzeichnet (Williams et al. 1980). Im gesunden Sehnengewebe ist es bis zu ca. 1% isolierbar (Silver et al. 1983). Die Fibrillen des Typs III haben im Vergleich zum Typ I einen geringeren Durchmesser. Aufgrund ihrer nicht linearen Architektur und einer reduzierten Quervernetzung zeichnen sie sich durch eine geringere



Zugfestigkeit aus (Goodship et al. 1994, Möller et al. 2000). Das Kollagen macht insgesamt mit über 80% der Trockenmasse, neben Proteoglykanen und anderen Glykoproteinen, den Hauptbestandteil der umfangreichen Extrazellulärmatrix aus (Goodship et al. 1994).

Die Extrazellulärschubstanz besteht zu 60-70% aus Wasser (Birch et al. 1999). Den größten Anteil der nichtfibrillären Grundsubstanz bilden die Proteoglykane, eine Gruppe von großen Molekülkomplexen, bestehend aus einem Proteinkern mit Kohlenhydratseitenketten (Smith 2002). Sie können in zwei Kategorien, die großen und kleinen Proteoglykane, eingeteilt werden. Die kleinen Proteoglykane, wie Decorin, Biglycan, Fibromodulin, haben strukturelle und regulatorische Aufgaben (Smith 2002). Einige dieser Proteoglykane binden an anderen Bestandteilen der Extrazellulärmatrix an. Sie unterstützen damit die mechanische Stabilität des Fasergewebes und beeinflussen die fibrilläre Anordnung (Goodship et al. 1994). Decorin bindet an Kollagenfibrillen des Typs I. Es wird vermutet, dass Decorin den Kollagendurchmesser reguliert, die Cross Links zwischen den Fibrillen unterstützt, und so an der Stabilität des Gewebes beteiligt ist (Smith 2002). Außerdem binden die kleinen Proteoglykane Wachstumsfaktoren, wie TGF- $\beta$ , und besitzen zudem eine hohe Wasserbindungsfähigkeit. Daher dienen sie auch als Wasser- und Ionenspeicher (Smith 2002). Neben den Proteoglykanen sind noch weitere Glykoproteine in der Extrazellulärmatrix enthalten. Das *Cartilage oligomeric matrix protein* (COMP) wurde in signifikanten Mengen in Geweben, die hauptsächlich starker Belastung standhalten müssen, wie Sehnen, Bändern, Knorpel, Bandscheiben und im Meniskus, gefunden (Smith 2002). Die Funktion des COMP konnte noch nicht komplett erläutert werden, aber es ist bekannt, dass COMP an Kollagenfibrillen des Typs I, II und IX bindet (Smith 2002). Andere Glykoproteine, wie Elastin, Fibronectin, Thrombospondin 4, konnten nachgewiesen werden, aber ihre Funktion ist noch nicht komplett geklärt (Smith 2002). Für die equine Spezies wurde vom Elastin berichtet, dass es eine wichtige Rolle in der Elastizität des Sehngewebes spielt (Silver et al. 1983).

In dieser Grundeinheit des M. interosseus medius sind variable Anteile von Muskelgewebe enthalten (Denoix 1994b, Dyson et al. 2002), die vom Ursprung bis in die Schenkel reichen (Wilson et al. 1991). Über den Umfang dieser Anteile weichen die Auffassungen der Autoren in ihren Studien voneinander ab. Wilson et al. (1991) beschreiben einen Anteil im proximalen Teil des M. interosseus medius von 31% in

der Vordergliedmaße und 41% in der Hintergliedmaße. Dyson et al. (1995) wiesen einen totalen Muskelfasergehalt im Fesselträgerkörper bei Vollblutpferden von 2,1 – 11% nach. In den Schenkeln betrug der größte Umfang an Muskulatur 7,5% (Wilson et al. 1991). In den Untersuchungen von Soffler et al. (2006) repräsentieren die Muskelbündel ungefähr 10% des Querschnittes des M. interosseus medius. Lempe (2007) konnte den verschiedenen Signalintensitäten des M. interosseus medius der Hintergliedmaße im MRT im histologischen Vergleich detailgenau die entsprechenden Gewebe zuordnen und diese morphometrisch vermessen. Dabei betrug der Muskelgewebsanteil im Minimum 18% und der höchste Anteil war mit 58% zu verzeichnen. Der Anteil des eingelagerten Muskelanteils im Ursprung der Hintergliedmaße bei Warmblutpferden betrug damit im Mittel 29,6% (Lempe 2007).

Nickel et al. (2001) nahmen an, dass ein Muskelanteil im M. interosseus medius vornehmlich beim Fohlen vorzufinden ist und mit zunehmendem Alter abnimmt. Im Gegensatz dazu geht Rooney (1973) davon aus, dass das eingelagerte Muskelgewebe zeitlebens besteht und nicht mit dem Alter verschwindet. Auch Wilson et al. (1991), Geyer (2006) und Lempe (2007) fanden heraus, dass es keinen altersbezogenen Unterschied in dem Umfang oder der Verteilung der Muskelfasern gibt. Bei allen Altersklassen sind Muskelfasern existent und selbst innerhalb einer Altersgruppe sind Unterschiede im Gehalt vorhanden (Lempe 2007). Wilson et al. (1991) demonstrierten außerdem einen rasseabhängigen Unterschied. Traber haben 40% mehr Muskelgewebe in ihrem M. interosseus medius als Vollblüter. Darüberhinaus konnten sie keinen signifikanten Unterschied im Anteil des Muskelgewebes zwischen dem Geschlecht oder der Nutzungsart feststellen.

Das Muskelgewebe im M. interosseus medius ist in zwei longitudinal ausgerichteten Bündeln angeordnet (Denoix 1994b), deren Gestalt sich zwischen Vorder- und Hintergliedmaße unterscheidet (Wilson et al. 1991, Bischofberger et al. 2006). In der Vordergliedmaße ist das Muskelgewebe in fast parallel halbkreisförmigen Bündeln orientiert (Rooney 1973). Die konkaven Seiten dieser c-förmigen Organisation von Muskelfasern sind einander zugewandt. Diese Gliederung ist proximal gut definiert, weiter distal weniger organisiert und diffuser verteilt. In der Hintergliedmaße sind die Muskelbündel mehr geradlinig geformt und liegen parallel zueinander (Wilson et al. 1991, Bischofberger et al. 2006).

Bei diesen Gewebsverbänden handelt es sich um Fasern quergestreifter Muskulatur (Schulze et al. 2008). Diese sind weniger als 1mm lang (Soffler et al. 2006), und der

Faserverlauf entspricht nicht immer dem des Sehngewebes (Lempe 2007). Die Muskelfasern sind zu den Kollagenbündeln in einem 45° Winkel verhältnismäßig zur Längsachse angeordnet (Rooney 1973). Die Untersuchungen von Soffler et al. (2006) zeigten hingegen einen größeren Winkel zur Mittellinie von 45-80°.

Diese kurzen Fasern quergestreifter Muskulatur sind hauptsächlich (95%) Muskelfasern des Typs I (Soffler et al.2006). Dabei handelt es sich um die sogenannten „slow-twitch“ Muskelfasern, die sehr ausdauernd und fast ermüdungsresistent sind. Sie kontrahieren sehr langsam, entwickeln keine hohen Kräfte, und weisen ein hohes oxidatives Potential auf. Es sind ebenfalls schnell kontrahierende Typ II – Fasern vorhanden, die mit einem hohen Energieverbrauch schnell ermüden. Diese Fasern repräsentieren nur einen kleinen Teil (5%) der Muskelfasern und weisen im Vergleich zu den Typ I – Fasern ein kleineres Diameter auf (Soffler et al.2006).

Rooney (1973) schreibt den schräg verlaufenden Muskelfasern eine unterstützende Aufgabe bei der Dämpfung der horizontalen und vertikalen Vibrationen im M. interosseus medius zu. Wilson et al. (1991) beschreiben auch einen dämpfenden Effekt.

Das Muskelgewebe ist außerdem stark mit Fettgewebe durchsetzt. Dieses tritt meist an der Kontaktfläche zwischen Muskel- und Sehnenanteil auf. Die Fettzellnester hüllen die Muskelfasern zum Teil vollständig ein (Lempe 2007). Das Fettgewebe hat stoßbrechende und stoßabsorbierende Eigenschaften.

Der M. interosseus medius ist nach außen hin von lockerem Bindegewebe umgeben. Im Bereich des Muskelgewebes sind im Bindegewebe starke Gefäße enthalten, die sich in anatomischer Nähe zu Nervenfaserbündeln befinden (Bischofberger et al.2006, Lempe 2007). Diese stammen von Abzweigungen des Ramus profundus des Nervus palmaris / plantaris lateralis (Lempe 2007) und innervieren das Muskelgewebe (Rooney 1973). An der Vordergliedmaße wird der Ursprung des M. interosseus medius ebenfalls durch diesen tiefen Ast des Nervus (N.) palmaris lateralis versorgt (Lischer et al.2006), der Fasern sowohl aus dem N.ulnaris als auch aus dem N.medianus enthält (Kainer 1989). Der Ramus profundus des N. palmaris lateralis teilt sich im weiteren Verlauf in die Nervi metacarpei palmares lateralis und medialis auf (Lischer et al.2006). Diese perforieren den M. interosseus medius und liegen mit den begleitenden Blutgefäßen in der durch das Röhrlbein und die Griffelbeine gebildeten Rinne (Kainer 1989).

An der Hintergliedmaße entspringt der N. plantaris lateralis proximal des Sprunggelenkes aus dem N. tibialis (Budras et al. 2000). Der weitere Verlauf in distale Richtung ähnelt dem am Metakarpus (Kainer 1989).

## **2.2. Mechanische Eigenschaften und Funktion des Fesselträgers**

Das Fesselgelenk wird durch das distale Ende des dritten Metakarpal- bzw. Metatarsalknochens, das proximale Ende des Fesselbeines und die beiden Gleichbeine gebildet (Kainer 1989). Es ist ein reines Wechselgelenk mit großem Bewegungsumfang. Es nimmt unter den Gelenken an der Extremität eine Sonderstellung ein, da der dorsale Streckwinkel kleiner als der Beugewinkel ist (Girtler 2001). Der M. interosseus medius dient der passiven Fixation des Fesselgelenkes und als Trageapparat, vor allem bei Übernahme der Körperlast (Kainer 1989). Er hat eine entscheidende Rolle in der Prävention der Überextension oder Einsturz dieses Gelenkes (Denoix 1994b).

Im Stand bewirkt der Druck des Körpergewichtes eine Senkung des Fesselgelenkes nach unten und hinten. Der M. interosseus medius wirkt einer Überstreckung im Fesselgelenk entgegen, und es kommt zur Feststellung der Zehengelenke (Girtler 2001).

Während der Stützbeinphase des Bewegungsablaufes fußt die Gliedmaße auf den Boden auf. Durch die kinetische Energie kommt es in dieser Phase der Lokomotion zu einer größeren Belastung und das Fesselgelenk wird noch weiter abgesenkt (Nickel et al. 2001). Der Streckwinkel des Fesselgelenkes vergrößert sich. Je nach Gangart ist der Winkelumfang unterschiedlich. Das Fesselgelenk erfährt in diesem Moment eine maximale Hyperextension (Girtler 2001). Während dieser Stützphase der Schrittfolge verrichtet der M. interosseus medius seine Hauptaufgabe. Er hat eine stützende Funktion und verhindert eine exzessive Extension des Fesselgelenkes (Jansen et al. 1993, Dyson et al. 2002, Brown et al. 2003, Lischer 2010). In dem Moment der vollen Lastaufnahme während des Stützens erfahren die oberflächliche Beugesehne und der M. interosseus medius die größte Zugbeanspruchung (Riemersma et al. 1996b). Oft geht eine Erkrankung des Fesselträgers mit Problemen der oberflächlichen Beugesehne einher, weil sich beide Strukturen in ihrer Funktion unterstützen (Stashak 1989). In dieser ersten Hälfte der Stützbeinphase kontrahieren die Muskelbäuche der oberflächlichen und tiefen Beugesehnen. Durch diese aktive

Anspannung der Beuger wird der M. interosseus medius unterstützt. Im Moment des Stemmens ist er aufgrund der nur geringen Überstreckung des Fesselgelenkes entspannt (Girtler 2001). Der M. interosseus medius wird damit in der Biomechanik als eine passive Struktur betrachtet, die den Stress und die Belastung auffangen muss, die in der Stützbeinphase aus dem Produkt aus Gewicht des Pferdes (und Reiter) und der Geschwindigkeit entsteht. Die Frage, ob die im M. interosseus enthaltenden Muskelfasern in diesem Moment durch Kontraktion die Last (und in welchem Ausmaß) vermindern können, ist ungeklärt (Soffler et al. 2006).

Eine weitere Funktion des M. interosseus medius ist das Speichern und Abgeben von elastischer Dehnungsenergie während der Bewegung (Birch et al. 1997b, Jansen et al. 1998). Dies wird erreicht durch eine dynamische, progressive Spannungszunahme im M. interosseus medius während der Belastung bzw. beim Aufprall des Hufes auf den Boden. Die dabei freiwerdende Energie wird gespeichert und beim Abfußen der Gliedmaße wieder unterstützend abgegeben (Bukowiecki et al. 1987). Außerdem ist er an der Schockabsorption beteiligt.

Die Unterstützungsschenkel des M. interosseus medius, die nach vorne in die gemeinsame Strecksehne ziehen, sind eher passiver Natur. Sie wirken einer Beugung des Kron- und Hufgelenks entgegen und verhindern so ein Aufsetzen des Hufes auf der Zehe (Jansen et al. 1993).

## 2.3. Pathologien des M. interosseus medius

### 2.3.1. Definition

Eine Erkrankung des M. interosseus medius wird infolge seiner anatomischen Stellung als bandartiges Muskelrudiment als *Desmitis* oder *Desmopathie* bezeichnet. Der Terminus *Desmitis* benennt die Entzündung von Bändern (McIlwraith W. 2002).

### 2.3.2. Erkrankungsformen

Läsionen des M. interosseus medius können in drei anatomischen Bereichen lokalisiert sein (Rijkenhuizen et al. 2007, Dyson et al. 2002, Dyson et al. 1995, Hauser et al. 1984):

1. Im Ursprungsbereich
2. Im mittleren Drittel, dem Fesselträgerkörper
3. An den Schenkeln

Die Veränderungen können an nur einer Stelle oder auch in kombinierter Form auftreten. Die extreme Form der Desmopathie ist der Niederbruch.

#### 2.3.2.1. Desmitis des proximalen M. interosseus medius (PSD = Proximal suspensory desmitis)

Entzündungen im Ursprungsbereich des M. interosseus medius sind eine häufige Erkrankung der Vorder- und Hintergliedmaße, die ein- oder auch beidseitig auftreten können (Dyson et al. 2002, Lischer et al. 2006). Im Allgemeinen sind die Vordergliedmaßen häufiger betroffen. Speziell beim Warmblutpferd ist dies aber nicht der Fall (Colahan et al. 1999). Zudem geht eine solche Erkrankung an der Hintergliedmaße mit einer schlechteren Prognose als an der Vordergliedmaße einher (Lischer et al. 2006). Rijkenhuizen et al. (2007) konnten zwischen der Behandlungsdauer und dem klinischen Therapieerfolg einen signifikanten Zusammenhang darstellen. Dabei heilten Läsionen an den Vorderbeinen im Vergleich zu den Hinterbeinen klinisch schneller aus. Das Risiko für das Auftreten von Rezidiven ist grundsätzlich hoch (Rijkenhuizen et al. 2007).

Im akuten Stadium ist es möglich durch Palpation eine Schmerzreaktion auszulösen. In chronischen Fällen treten palpatorisch meist keine erkennbaren Abnormalitäten auf (Dyson et al. 1995).

Bei einer PSD in der Vordergliedmaße zeigen die Pferde eine unterschiedlich starke Lahmheit. Diese zeigt sich deutlicher, wenn die betroffene Gliedmaße auf der Außenseite des Zirkels geführt wird. Zudem verschlechtert sich die Lahmheit auf weichem Boden (Moyer et al. 1980, Personet et al. 1983, Dyson et al. 1995, Dyson et al. 2002, Lischer et al. 2006, Rijkenhuizen et al. 2007). Bei einer fast unmerklichen Lahmheit wird sie eher von dem Reiter gefühlt, als dass sie von einem Beobachter gesehen wird. Bei Pferden mit einer chronischen Entzündung ist die Lahmheit hartnäckig und fortdauernd. Sie variiert von gering bis mittelgradig (Dyson et al. 2002). Die Lahmheit kann zudem wechselhaft sein und nach längeren Ruhephasen ganz verschwinden und bei Belastung wieder auftreten (Lischer et al. 2006).

Die PSD in der Hintergliedmaße tritt bei allen Pferden aller Altersklassen auf und ist ein besonderes Problem bei Dressurpferden höherer Klassen (Dyson et al. 2002). Das Vorkommen von beidseitigen Läsionen ist laut Dyson et al. (2002) an den Hinterbeinen wahrscheinlicher. Die Pferde zeigen eine geringe bis mittelgradige Lahmheit, die im Gegensatz zur Vordergliedmaße andauern und trotz Boxenruhe bestehen bleiben kann (Dyson et al. 2002). Lischer et al. (2006) vermuten, dass diese chronische Schmerzhaftigkeit möglicherweise auf ein Kompartmentsyndrom zurückzuführen ist. Die kaum dehnbare, derbe Faszie am Hinterbein führt bei einer Verdickung des M. interosseus medius zu einem erhöhten Druck. Der erhöhte Gewebeinnendruck führt zu Durchblutungsstörungen und Schäden an Blutgefäßen, Nerven und Muskeln.

Viele Pferde mit einer PSD in der Hintergliedmaße zeigen hingegen lediglich eine verringerte Leistungsfähigkeit bzw. eine nur unter dem Reiter erkennbare Lahmheit. Die Lahmheit ist oft charakterisiert durch einen verringerten Vorführbogen des Hufes. Die kraniale Phase des Schrittes ist verkürzt (Dyson et al. 2002). Eine Lahmheit zeigt sich dann auf einem Zirkel an der Longe und in tiefem Boden deutlicher (Lischer et al. 2006).

Das Auftreten einer solchen Erkrankung an beiden Hintergliedmaßen resultiert eher in einer verringerten Hinterhandaktivität als in einer deutlich sichtbaren Lahmheit (Dyson et al. 2002).

Bei einer PSD können ausgeprägte dystrophische Verkalkungen auftreten, die auch auf einem Röntgenbild sichtbar sein können (Lischer et al. 2006). Solche radiologischen Veränderungen kommen an der Hintergliedmaße häufiger vor als an der Vordergliedmaße, was die Chronizität von Verletzungen an den Hinterbeinen widerspiegelt (Dyson et al. 1995).

### **2.3.2.2. Desmitis des Fesselträgerkörpers (Body lesions)**

Läsionen des M. interosseus medius in seiner Körperregion, sogenannte *Body lesions*, werden weniger häufig beobachtet als eine PSD oder eine Desmitis der Schenkel. Veränderungen im Bodybereich des M. interosseus medius sind in der Regel mit anderen pathologischen Prozessen kombiniert, wie Frakturen der Griffelbeine oder proliferative periostale Erkrankungen (Moyer et al 1980, Dyson et al. 1995, Dyson et al. 2002). Darüberhinaus erscheinen sie als Folge einer Schenkelverletzung des M. interosseus medius (Moyer et al.1980, Dyson et al. 1995, Dyson et al. 2002). Body lesions sind häufig direkt in der Region über der Bifurkation lokalisiert (Moyer et al. 1980). Sie treten sowohl an der Vorder- als auch an der Hintergliedmaße auf. Allerdings ist hier die Vordergliedmaße häufiger betroffen (Dyson et al. 1995). Im Vergleich zur PSD und den Schenkelläsionen geht die Desmitis der Körperregion des M. interosseus medius eher mit klinischen Anzeichen wie Wärme, Schwellung und Schmerz einher. Eine Lahmheit ist hingegen laut Dyson et al. (1995) in der Regel weniger deutlich und es besteht nur ein geringer Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Läsion und dem Grad der Lahmheit (Dyson et al. 2002). Rijkenhuizen et al. (2007) berichten bei Body-Läsionen von einer auftretenden Lahmheit, die von undeutlich geringgradig bis mittelgradig variieren kann. Zudem besteht laut Dyson et al. (2002) eine hohe Wiederverletzungsrate des Bodybereiches des M. interosseus medius derselben oder der bilateralen Gliedmaße.

### **2.3.2.3. Desmitis der Fesselträgerschenkel (Branch lesions)**

Entzündungen des lateralen oder medialen Schenkels des M. interosseus medius sind in der Vorder- und Hintergliedmaße relativ häufige Verletzungen bei allen Typen von Sportpferden (Dyson et al. 2002). In der Regel ist nur ein Schenkel einer einzelnen Gliedmaße betroffen. In diesem Falle wird von einer *einseitigen Schenkeldesmitis* gesprochen. Bei einer *beidseitigen Schenkeldesmitis*, die vor allem in der Hintergliedmaße auftritt, sind beide Schenkel betroffen (Moyer et al. 1980,



Dyson et al. 2002). Dabei kommt es zu einer Positionsveränderung und einer Hyperextension des Fesselgelenkes (Moyer et al. 1980).

Klinische Symptome sind abhängig vom Grad und von der Chronizität der Verletzung. Normalerweise sind eine Umfangsvermehrung des betroffenen Schenkels sowie eine unterschiedlich starke Weichteilschwellung des umliegenden Gewebes palpierbar. In chronischen Fällen ist eine Verdickung des Schenkels offensichtlich, aber die Palpation verursacht keine Schmerzen (Dyson et al. 1995). Der Lahmheitsgrad kann bei einer Lokalisation der Erkrankung in den Schenkeln stark variieren oder sogar fehlen. Meistens ist eine auftretende Lahmheit aber proportional zum Ausmaß des Schadens (Dyson et al. 1995, Dyson et al. 2002) und schlechter in tiefem, weichen Boden (Moyer et al. 1980). Jüngere Pferde entwickeln laut Dyson et al. (2002) geringgradige, andauernde Lahmheiten in Verbindung mit einer fortschreitenden Dehnung des betroffenen Schenkels und einer assoziierten Hyperextension des Fesselgelenkes. Zudem bildet sich oft eine periligamentöse Fibrose aus. Nach Dyson et al. (2002) haben Pferde mit Schenkelläsionen des M. interosseus medius in der Hintergliedmaße und einer auftretenden fibrösen Adhäsion der Schenkel eine schlechte Prognose. Außerdem können sich dystrophische Verkalkungen in der Insertionsstelle der Schenkel an den Gleichbeinen entwickeln und progressiv fortschreiten. Der Grad der dystrophischen Verkalkung ist prognostisch ebenfalls entscheidend (Dyson et al. 1995).

#### **2.3.2.4. Insertionsdesmopathie des M. interosseus medius**

Insertionsdesmopathien stellen krankhafte Veränderungen im Ursprungs- und Ansatzbereich von Bändern und Sehnen dar (Huskamp et al. 1988). Hier kommt es zum Abriss einzelner Sehnenfasern oder der ganzen Sehne an ihrer Ansatzstelle.

An der proximalen Insertionsstelle des M. interosseus medius können Faserabriss im Bereich der Knochenansatzzone auftreten. Auf eine erfolgte Traumatisierung können laut Ueltschi (1989) knöcherne Reaktionen, wie eine Periostitis ossificans und eine Verdichtung des Knochengewebes (Sklerosierung) auftreten. Infolge stärkerer Traumatisierungen kann es zu Ausrissfrakturen der knöchernen Struktur in der Insertionszone des M. interosseus medius kommen (Weiler 2000). Solche Avulsionsfrakturen gehen mit einer Desmitis des proximalen M. interosseus medius einher (Urhahne 2005).

Solche Veränderungen an der knöchernen Struktur können ebenfalls im Bereich der Insertionsstelle der M. interosseus medius – Schenkel an den Gleichbeinen auftreten. Diese gehen dann in den meisten Fällen mit einer Desmitis der Fesselträgerschenkel einher.

#### **2.3.2.5. Degenerative Desmitis des M. interosseus medius (DSLDD = Degenerative Suspensory Ligament Desmitis)**

Neben diesen entzündlichen Prozessen treten auch degenerative Veränderungen am M. interosseus medius auf.

Degenerative Veränderungen des Fesselträgers an der Hintergliedmaße sind zwar bei älteren Pferden jeder Rasse anzutreffen, aber in relativ hoher Frequenz und auch mit Lokalisation an der Vordergliedmaße treten sie vor allem beim Peruvian Paso, einer spanischen Pferderasse, auf. Ebenso bei Kreuzungen mit dieser Rasse, bei Arabern, dem American Saddlebred und dem American Quarter Horse scheinen sie ebenfalls häufiger beobachtet zu werden (Young 1993). Die Erkrankung scheint gehäuft in familiären Linien aufzutreten. Deswegen nehmen Young (1993), Hayes (1994) und Halper et al. (2006) eine hereditäre Komponente an.

Betroffene Pferde entwickeln eine bilaterale oder quadrilaterale Lahmheit, die häufig persistierend ist. Aus dem Grund wird eine Lahmheit häufig erst spät bemerkt. Peruvian Paso zeigen klinische Symptome zeitlich eher als andere Rassen (Mero et al. 2002). Bei den Untersuchungen von Halper et al. (2006) zeigten von insgesamt 28 Pferden 19 Pferde eine Lahmheit auf allen 4 Gliedmaßen. Bei 9 Pferden konnte eine bilaterale Bewegungsstörung beobachtet werden. Adspektorisch und palpatorisch fällt eine derbe Umfangsvermehrung des M. interosseus medius auf, wobei dessen ganze Länge oder nur ein Teil betroffen sein kann. Laut Halper et al. (2006) ist in der Regel der proximale und mittlere Bereich betroffen. Mero et al. (2002) hingegen berichten, dass hauptsächlich die Schenkel des M. interosseus medius betroffen sind. Weiterhin bestand keine Korrelation zwischen dem Ausmaß der Läsion und dem Signalement oder dem klinischen Bild, wie Schmerz oder Lahmheit (Halper et al. 2006). Die Erkrankung tritt auch unabhängig von sportlichem Einsatz des Pferdes auf (Mero et al. 2002).

Bisher ist davon ausgegangen worden, dass das klinische Syndrom DSLDD auf den M. interosseus medius der distalen Gliedmaße des Pferdes begrenzt war. Die

Resultate der Studie von Halper et al. (2006) zeigen, dass es sich hierbei um eine systemische Erkrankung handelt, die viele Gewebe und Organe betrifft. Hier besteht ein signifikanter Zusammenhang zu bindegewebshaltigen Geweben. Bei betroffenen Pferden waren Veränderungen im Kollagengewebe nicht auf den M. interosseus medius begrenzt, sondern systemisch manifestiert. Sie traten außerdem in der oberflächlichen und tiefen Beugesehne, in den Kniebändern, im Nackenband, im Herzgefäßsystem und den Skleren auf. Histopathologische Untersuchungen zeigten eine Ansammlung von erheblichen Mengen an Proteoglykanen in diesen Geweben. Eine solche Anhäufung befand sich zwischen Kollagen- und elastischen Fasern und war das prominenteste histologische Merkmal. Neben dieser fokalen Ansammlung von Proteoglykanmaterial war der Bereich der Verletzung histologisch durch das Auftreten einer Fibrose charakterisiert.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen demonstrierten Veränderungen im Durchmesser von Kollagenfasern in Sehngewebe und im M. interosseus medius. Im normalen Sehngewebe zeigte die Mehrheit der Kollagenfasern im Querschnitt große Durchmesser. Sektionen von DSLD betroffenen Sehngewebe präsentierten eine erhöhte Anzahl von Kollagenfasern mit kleinem Durchmesser. Dieser Anstieg von kleinen Kollagenfibrillen besteht laut Halper et al. (2006) sekundär zur qualitativen Veränderung in der Synthese von Proteoglykanen.

Histopathologische Untersuchungen zeigen einen fortschreitenden pathologischen Prozess dieser Erkrankung und die Prognose wird als schlecht bezeichnet (Young 1993).

### **2.3.3. Ätiologie**

Der M. interosseus medius hat eine große Prävalenz für Verletzungen (Goodship et Birch 2001). Die Ursache für Erkrankungen des M. interosseus medius sind fibrilläre Mikroläsionen, die durch Überbelastung bzw. Überdehnung dieser sehnenartigen Struktur entstehen können und bei weiterer Belastung zu größeren Schäden und Entzündungen führen (Schneider 2006). Demnach sind Verletzungen des M. interosseus medius in den meisten Fällen nicht als primäre Überbelastungsschäden, sondern als das Ergebnis einer Akkumulation von degenerativen Mikrotraumen zu betrachten (Goodship et al. 1994, Platt et al. 1994, Crevier-Denoix et al. 1997). Da der

M. interosseus medius seine Hauptbelastung in der ersten Phase der Stützbeinphase erfährt, stellen biomechanische Faktoren, wie Fehlstellungen und Fehlbelastungen einen prädisponierenden Faktor dar (Smith 2002, Dyson et al. 2002). Laut Dyson et al. (2002) sollte deswegen der Huf, sowie das ganze Pferd, gründlich untersucht werden, da die PSD, wie auch die Desmitis der Fesselträgerschenkel, häufig eine ausgleichende Erkrankung infolge von Hufimbalance oder Fehlstellungen ist. Hier wird auch die Durchbiegigkeit im Vorderfußwurzelgelenk als prädisponierender Faktor genannt (McCullagh et al. 1979). Außerdem erscheinen Pferde mit geradem Sprunggelenk oder einer Hyperextension des Fesselgelenkes prädisponiert für eine solche Verletzung (Dyson et al. 2002). Auch Exterieurmängel, wie eine Tendenz zur langen, weichen Fessel, langen Zehen und niedrigen Trachten, vor allem bei gleichzeitig abnormaler Orientation der distalen Gliedmaße, werden als begünstigende Faktoren bei der Entstehung dieser Erkrankungen angenommen (Dyson et al 1995).

Distorsionen des Fesselgelenkes mit auftretender Überbelastung bei intensiver Arbeit können zu Faserabrissen am Ursprung bzw. an der Insertion an den Gleichbeinen führen (Rijkenhuizen et al. 2007). Auch extreme Krafteinwirkungen auf das Fesselgelenk im Zusammenhang mit Ermüdung des Gewebes infolge mangelnder Kondition der Muskulatur oder Trainingsschwäche können als Ursache angenommen werden (McCullagh et al. 1979, Blobel 1988, Stashak 1989, Birch et al. 1997a, Meershoek et al.2001). Weiterhin wurden systemische Erkrankungen oder unkoordinierte Bewegungen prädisponierend für Verletzungen beobachtet (Webbon 1973). Durch momentane oder chronisch ungleiche Belastung der Gliedmaße erfährt einer der Schenkel des M. interosseus medius während der Senkung des Fesselkopfes eine exzessive Dehnung (Moyer et al. 1980). Das kann die Folge von Hufimbalance, Hufbeschlag, angeborener Prädisposition oder auch schlechter Bodenbeschaffenheit sein (Moyer et al. 1980, Dyson et al. 2002). So mögen weiche Untergründe die Belastung des M. interosseus medius erhöhen, weil sie ein Einsinken des Hufes erlauben (Smith 2002). Aber vor allem auch unebene und rutschige Böden, oder auch abrupte Wendungen, sorgen für eine plötzliche Mehrbelastung der beschriebenen Strukturen (Fackelmann 1973, McCullagh et al. 1979, Stashak 1989). Auch äußere Faktoren, wie das Gewicht des Reiters oder harter Boden, vergrößern die einwirkende Kraft (Smith 2002). Besonders an der

Hintergliedmaße können auch direkte Traumata Grund für Erkrankungen des Fesselträgers sein (Schneider 2006).

Insgesamt hängt die Entstehung von klinisch relevanten Schäden am M. interosseus medius aber von der Summe prädisponierender Faktoren ab (Dowling et al. 2000). Hingegen wird bei der oben beschriebenen degenerativen Desmitis des M. interosseus medius (DSLDD) eine hereditäre Komponente angenommen, da die Erkrankung gehäuft in familiären Linien auftritt (Young 1993, Hayes 1994, Halper et al. 2006). Im Rahmen dieser Erkrankung wird spekuliert, dass zu einem bestimmten Zeitpunkt des Lebens ein ursprünglich normaler Fesselträger eines prädisponierten Pferdes der normalen Belastung nicht mehr standhält, und aufgrund eines abnormalen Heilungsverlaufes ein chronisches Geschehen seinen Anfang nimmt (Young, 1993).

#### **2.3.4. Pathogenese**

Verletzungen des M. interosseus medius durch übermäßigen Zug zählen zu den Überdehnungen (Stashak 1989). Belastungen bis über die Elastizitätsgrenze hinaus führen zu Faserüberdehnungen, Verlagerungen und in vielen Fällen zur Ruptur von Kollagenfibrillen und Sehnenfasern. Aufgrund dessen, und des Verlustes der lateralen Kohäsion der Fasern, gehen die Stabilität und auch die Elastizität verloren (Fackelmann 1973). Zerreißen kleiner Fasern führen zu kapillären Blutungen ins Gewebe (McCullagh et al. 1979). Sofort treten Fibrinansammlungen und Ischämie im Gebiet der Verletzung auf, was zu Kongestion - Ödeme zwischen den Fasern - bis hin zu Nekrosen der Tendozyten und Fibrillen führt (McCullagh et al. 1979). Außerdem werden bei der akuten entzündlichen Exsudation auch hydrolytische Enzyme freigesetzt, die eine weitere Schädigung der Kollagenfibrillen und der interfibrillären Matrix verursachen und auch die zunächst unbeschädigten Nachbarareale beeinträchtigen (McCullagh et al. 1979, Stashak 1989, Smith 2002). Infolge der Entzündungskaskade wandern aufgrund Chemotaxis neutrophile Granulozyten und Leukozyten in das geschädigte Gewebe ein, gefolgt von Gewebsmakrophagen (Smith 2002).

### 2.3.5. Heilung

Die Heilung von Sehngewebe ist ein langsamer Prozess, verglichen mit der Wiederherstellung der meisten anderen Gewebe, wie Knochen oder Haut. Sie kann extrinsisch (Heilung erfolgt über einwandernde Fibroblasten und einsprossende Kapillaren vom Peritendineum aus) oder intrinsisch (Zellen wandeln sich innerhalb des Sehngewebes in aktive Fibroblasten um) erfolgen (Stashak 1989).

Die einsetzende Heilung beinhaltet die Bildung von Granulationsgewebe und dessen folgende Organisation in fibröses Gewebe (Stashak 1989). Man unterscheidet verschiedene Phasen. Die oben beschriebene *akute Entzündungsphase* dauert in der Regel 1 – 2 Wochen. Die folgende subakute *Proliferationsphase* beginnt schon einige Tage nach der Verletzung und überschneidet sich mit der akuten Entzündungsphase (Smith 2002). Diese Phase ist gekennzeichnet durch Vaskularisation und Ansammlung von Fibroblasten im geschädigten und entzündeten Gewebe. Diese Zellen sind verantwortlich für die Bildung von fibrillärem Granulationsgewebe (McCullagh et al. 1979, Stashak 1989, Smith 2002). Kollagenanalysen zeigten, dass dieses Narbengewebe mehr Typ-III-Kollagen als Kollagen-Typ I enthält (Williams et al. 1980). In der folgenden *Reifungsphase* (3 Wochen bis zu 1 Jahr) kommt es zu einer fortschreitenden longitudinalen Ausrichtung der Fibroblasten und der synthetisierten Kollagenfibrillen (Webbon 1973, McCullagh et al. 1979, Williams et al. 1980). Im Rahmen von Auf- und Abbauvorgängen kommt es zu Veränderungen in den Anteilen der Kollagenfraktionen. So wird Kollagen Typ III durch Umbauprozesse zu Kollagen Typ I umgebaut. Jedoch können nach 14 Monaten zum Teil noch erhebliche Mengen an Kollagen Typ III nachgewiesen werden (Williams et al. 1984). In Korrelation zu diesem hohen Anteil an Kollagen-Typ III im Reparationsgewebe steht ein hoher Anteil von Fibrillen mit einem Durchmesser unter 80 nm (Oberbeck 1992, Goodship et al. 1994, Becker et al. 2001). Das Gewebe wird nicht mehr zu normalem Sehngewebe (Smith 2002) umgebildet. Die Wiederherstellung der rupturierten Sehnenfasern im Sinne einer Regeneration ist nicht möglich (Silbersiepe et al. 1986). Es handelt sich bei dem Heilungsprozess um eine Reparatur und endet mit der Bildung von kollagenem Narbengewebe (Stashak 1989). Das Narbengewebe bleibt zellreicher als normales Sehngewebe und kann verknorpelte oder verkalkte Bereiche aufweisen. Außerdem können peritendinöse Fibrosen oder Adhäsionen

entstehen (Webbon 1973). Dieses nachgebildete Sehngewebe ist im Vergleich weniger elastisch und weniger belastbar (Smith 2002).

Hingegen wird bei der DSLD vermutet, dass hier im Verlauf der Reparatur Kollagenfibrillen zu größeren Bündeln verschmelzen. Die Fibroblasten im Inneren werden in der Folge schlechter versorgt. Diese degenerieren, werden nekrotisch oder transformieren in Chondrozyten (Mero et al. 2002). Dadurch kommt es zu einer Verknorpelung des M. interosseus medius, die zum einen eine normale Abheilung verhindert, zum anderen die mechanische Belastbarkeit deutlich verschlechtert (Young 1993, Mero et al. 2002).

## **2.4. Diagnostik bei Erkrankungen des M. interosseus medius**

### **2.4.1. Klinische Untersuchung**

Die Diagnose akuter und chronischer Leiden des M. interosseus medius erfolgt zuerst mittels einer sorgfältigen und umfassenden *klinischen Untersuchung*. Diese beginnt mit Ermittlung der genauen Krankheitsgeschichte des Pferdes in einem ausführlichen Gespräch mit dem Besitzer des Tieres (Anamnese). Es folgt die Lahmheitsuntersuchung mit gründlicher Adspektion der Gliedmaße in Ruhe und in der Bewegung. Anschließend werden die Gliedmaßen durch Palpation im belasteten und angehobenen Zustand systematisch untersucht (Stashak 1989).

Die klinische Untersuchung hat eine fundamentale Bedeutung und erst im Anschluss werden weiterführende diagnostische Untersuchungen vorgenommen.

### **2.4.2. Sonographische Untersuchung**

Die Sonographie ermöglicht eine visuelle Darstellung von Weichteilstrukturen (Stadtbäumer 1988). Die innere Anatomie dieser Strukturen kann so sichtbar gemacht werden (McClellan 1986). Der Einsatz der Ultraschalldiagnostik bei Weichteilveränderungen im distalen Gliedmaßenbereich beim Pferd wurde von

verschiedenen Autoren untersucht (Hauser et al. 1982, Hauser 1986, Rantanen 1986, Genovese et al. 1986, Reef et al. 1988, Stadtbäumer 1988) und wird seit den frühen 80er Jahren routinemäßig angewendet.

Die Ultraschalluntersuchung ist eine wertvolle, nicht invasive diagnostische Unterstützung und kann am stehenden Patienten, auch ambulant, durchgeführt werden (Spaulding 1984, Rapp 1997). Dadurch ist es möglich, die verschiedenen Sehnenanteile einer Gliedmaße zu differenzieren (Stadtbäumer 1988) und Unterschiede in der Struktur der Weichteilgewebe sichtbar zu machen (Dik et al. 1991). Die Befunde lassen sich objektiv darstellen und bildlich dokumentieren (Rapp 1997).

#### **2.4.2.1. Technische Ausrüstung**

Zur Untersuchung der distalen Gliedmaße sind Ultraschallgeräte mit einem Linearschallkopf von 5 - 7,5 MHz erforderlich (Genovese et al. 1987, Stadtbäumer 1988, Dik et al. 1991, Steyn et al. 1991, Rapp 1997). Zur Darstellung des M. interosseus medius sind 7,5 MHz-Schallköpfe am effektivsten (Rantanen 1993). Da die Fokuszonen der Schallwellen bei diesen Frequenzen etwas zu tief im Gewebe liegt, kann für die Darstellung von Haut, Unterhaut und der oberflächlichen Beugesehne, eine sogenannte *Vorlaufstrecke* notwendig sein. Dabei handelt es sich um einen Schallwellen durchlässigen, luftfreien Silikonaufsatz, der den Abstand zwischen Haut und Schallkopf vergrößert (Stadtbäumer 1988, Steyn et al. 1991). So werden die anatomischen Strukturen aus dem nicht zu beurteilenden Nahfeld in die Fokuszonen des Schallkopfes verschoben und können so besser beurteilt werden.

#### **2.4.2.2. Untersuchungstechnik**

Die sorgfältige Vorbereitung des Pferdes für den Ultraschall ist wichtig für eine gute Bildqualität (Stadtbäumer 1988, Lischer 2010). Sie beinhaltet das Scheren der Haare in dem zu untersuchenden Bereich, die gründliche Reinigung der Gliedmaße, das Entfetten mit Alkohol und das Einreiben der Haut mit Ultraschallkontaktgel (Spaulding 1984, Stadtbäumer 1988, Dik et al. 1991, Lischer 2010). Dies ist wichtig, um Artefakte im Bild, aufgrund von Luft oder Schmutzpartikeln in den Haaren, zu verhindern (Spaulding 1984). Außerdem sollte für die sonographische Untersuchung des M. interosseus medius am Hinterbein, wegen der Anordnung der Griffelbeine im Ursprungsbereich, weit nach medial geschoren werden (Lischer 2010).



Bei der Sonographie im B-Mode-Verfahren werden Schnittbilder in 2-dimensionaler Darstellung der Echos erzeugt. Aus diesem Grund sollte eine Untersuchung immer mindestens in zwei geometrischen Ebenen erfolgen (Genovese et al. 1986, McClellan 1986, Stadtbäumer 1988). Die Untersuchung wird proximal am Metakarpus bzw. Metatarsus gestartet und nach distal fortgesetzt. Es werden erst alle Zonen im Längsschnitt (Schallkopf parallel zur Längsachse des Beines), dann im Querschnitt (Schallkopf horizontal zur Längsachse des Beines) gescannt (Genovese et al. 1986, McClellan 1986) und die Sehnenstrukturen beurteilt. In der horizontalen Ebene kann es aufgrund der konvexen Form der palmaren bzw. plantaren Oberfläche der distalen Gliedmaße schwierig werden, einen guten Kontakt zwischen Schallkopf und Haut zu bekommen (Wood et al. 1991). Die betroffene Sehnenstruktur muss in ihrer gesamten Länge in Quer- und Längsschnitten sonographisch untersucht werden, um das Ausmaß des Schadens zu dokumentieren (Rapp 1997).

Beim Abfahren der distalen Gliedmaße auf der palmaren bzw. plantaren Seite (McClellan 1986) penetrieren die im Schallkopf erzeugten Schallwellen das Gewebe und werden an allen Grenzflächen mit unterschiedlichen akustischen Eigenschaften reflektiert. Jede Struktur hat aufgrund ihrer zellulären Zusammensetzung, ihrem Faserverlauf und ihrer Blutversorgung, ihre eigene Dichte (Genovese et al. 1986). Je nach Dichte der Gewebe werden die Schallwellen verschieden stark zurückgeworfen. Im Schallkopf werden diese Schallwellen in elektrische Impulse umgewandelt und auf einem Monitor optisch dargestellt (Stadtbäumer 1988).

#### **2.4.2.3. Bildinterpretation von Ultraschallbildern**

Auf dem Monitor stellen sich die Ultraschallbilder grundsätzlich als weiße Bildpunkte auf schwarzem Hintergrund dar. Abhängig von ihrer akustischen Dichte und des Flüssigkeitsgehalt stellen sich die Gewebe in unterschiedlichen Graustufen dar (Stadtbäumer 1988). Stark reflektierende Grenzflächen, wie Luft, Knochen oder Kalk, stellen sich als weiße Areale mit dahinter liegender Schallauslöschung dar. Sie verhindern eine weitere Passage des Schalls. In der Folge entsteht ein starkes Echo. Diese reflexreichen Strukturen werden daher als hyperechogen, hyperechoisch oder echoreich bezeichnet (Genovese et al. 1986). Flüssigkeiten erscheinen reflexarm (Stadtbäumer 1988). Solch ein fehlendes Echo stellt sich als schwarzes Areal dar. Die Struktur wird dann echofrei, anechoisch oder anechogen genannt (Genovese et al. 1986). Die Weichteilgewebe stellen sich in Graustufen dar und werden als

isoechoisch oder echogen charakterisiert. Erscheinen Strukturen weniger weiß als normal, nennt man dies hypoechogen oder hypoechoisch (Genovese et al. 1986).

#### **2.4.2.4. Artefakte in der Sonographie**

Im sonographischen Bild besteht immer die Gefahr von Artefakten (Stadtbäumer 1988). Dabei handelt es sich um Störungen in der Bilddarstellung. Diese können leicht zu Fehlinterpretationen und Fehldiagnosen führen (Dik et al. 1991).

Eine ungenügende Vorbereitung des Patienten kann Grund für eine schlechte Bildqualität sein. Bei schlechter Hautvorbereitung befindet sich Luft zwischen Haut und Schallkopf. An dieser Grenzfläche entstehen die meisten Artefakte (Dik et al. 1991, Wood et al. 1991). Im Bild stellt sich dies als *dorsaler Schallschatten* dar. Es kommt zur Schallauslöschung (Park et al. 1981). Im Schallschatten kann es zu leichten *Wiederholungsechos* kommen. Sie stellen sich als hintereinander, parallel angeordnete Linien dar. Dieses Artefakt tritt vor allem an Grenzflächen auf und kommt durch die Reflektion der Echos zustande (Park et al. 1981).

Falsche Geräteeinstellungen können ebenfalls Ursache für eine schlechte Bildqualität und für das Auftreten von Artefakten sein. So kann eine zu hohe Ultraschalleistung ebenfalls zum Auftreten von Wiederholungsechos führen (Dik et al. 1991). Daher sollte die geringste Ultraschalleistung gewählt werden, um noch brauchbare Bilder zu erzeugen. Eine falsche Einstellung des Tiefenausgleiches am Ultraschallgerät kann ferner für einen Qualitätsverlust verantwortlich sein. Die Tiefeneinstellung unterdrückt stärkere Nahfeldechos und verstärkt schwächere Fernfeldechos. So werden Gewebe mit gleicher Echodichte, aber unterschiedlicher Entfernung zum Schallkopf, mit gleichem Erscheinungsbild dargestellt. Bei zu hoher Einstellung werden die Nahfeldechos unterdrückt und bei zu geringer Einstellung wird das Nahfeld durch zu starke Echos aus oberflächlichen Bereichen verdeckt (Dik et al. 1991).

Schallwellen werden durch Flüssigkeiten nur wenig gedämpft und es kann distal der Flüssigkeit zu einer *Schallverstärkung* kommen. Diese Echoverstärkung kann dann im Sehngewebe zu einer Fehlinterpretation führen und fälschlicherweise für Narbengewebe gehalten werden (Genovese et al. 1986).

Desweiteren können schlechte Bildqualität und Fehlinterpretation durch das schräge Auftreffen von Schallwellen und durch einen ungenügenden Bildausschnitt auftreten

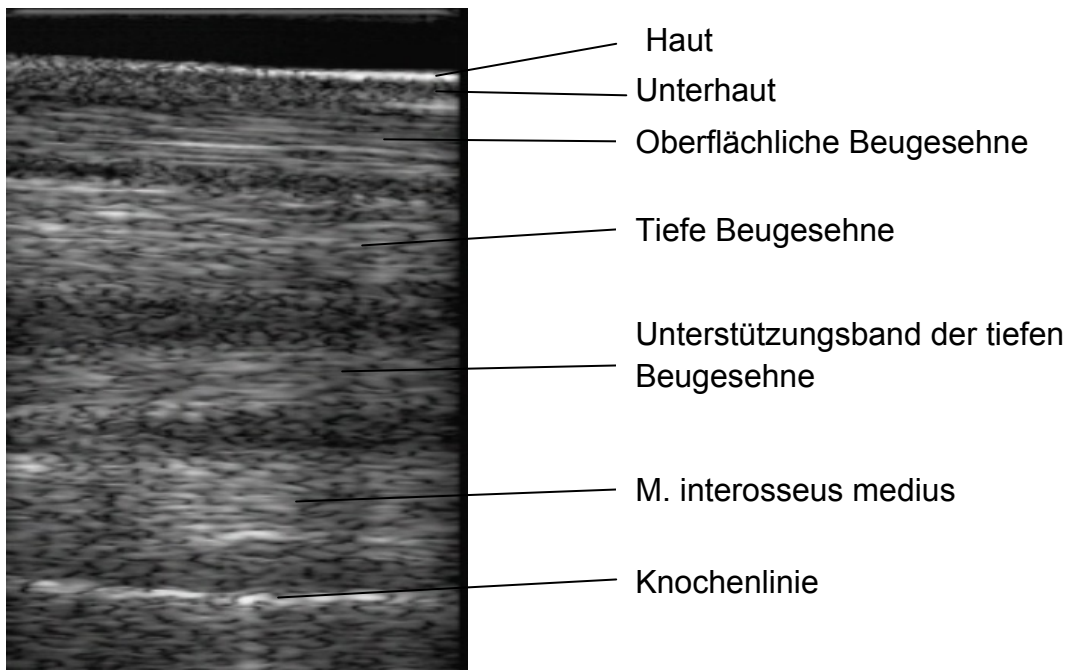
(Dik et al. 1991). Bei schrägem Einfall der Schallwellen kann in das Zentrum der Sehne eine hypoechogene Zone hinein projiziert werden, die wiederum fehlinterpretiert werden kann.

Die Ultraschalluntersuchung ist damit sehr Artefakt anfällig und die Befunde müssen sehr kritisch beurteilt werden (Dik et al. 1991, Lischer et al. 2006). Um fehlerhafte Interpretationen zu vermeiden, muss auf die richtige Einstellung des Gerätes, eine gründliche Vorbereitung des Pferdes, und eine sorgfältige Durchführung der Untersuchung, geachtet werden (Stadtbäumer 1988). Aus diesem Grund ist es wichtig, die Untersuchung immer in mehreren Ebenen auszuführen. Denn erst wenn eine pathologische Veränderung in den verschiedenen Darstellungen an der gleichen Stelle wieder zu finden ist, handelt es sich nicht um ein Kunstprodukt (Stadtbäumer 1988).

#### **2.4.2.5. Auswertung von Ultraschallbildern**

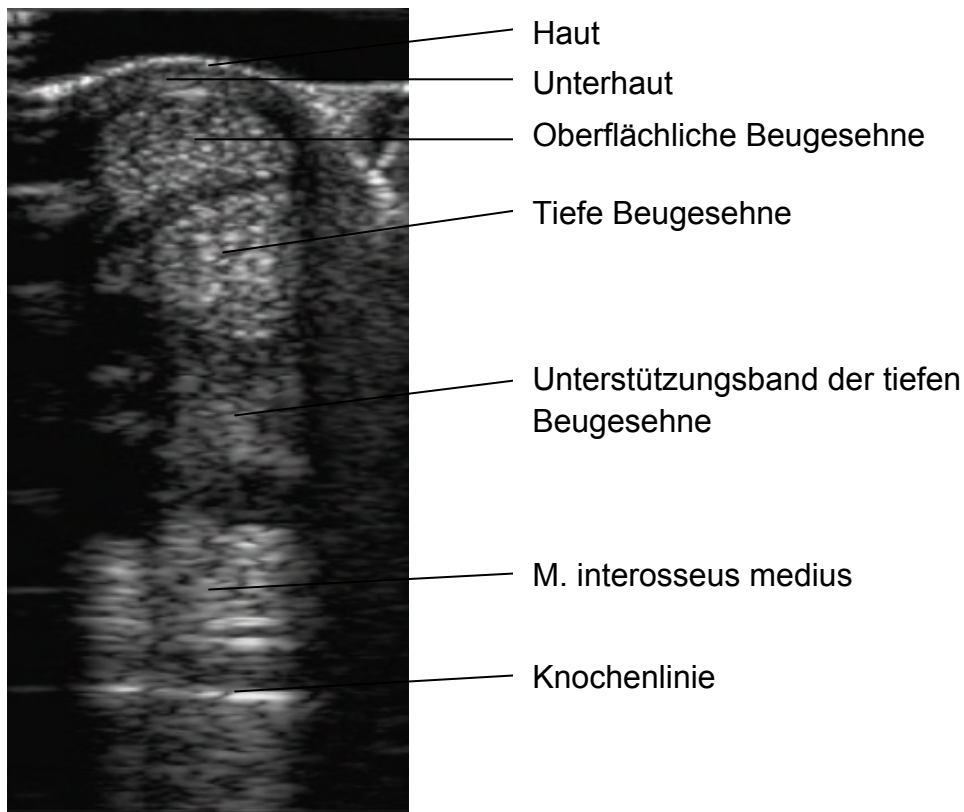
Mit Hilfe des diagnostischen Ultraschalls lassen sich Lokalisation, Größe, Form und Ausmaß einer Läsion genau bestimmen (Genovese et al. 1986, Dik et al. 1991).

Das physiologische sonographische Bild der Sehnen und Bänder des Metakarpus bzw. Metatarsus wurde von einigen Autoren ausführlich beschrieben und dargestellt (Spaulding 1984, Genovese et al. 1986, Stadtbäumer 1988, Steyn et al. 1991, Wood et al. 1993, Smith et al. 1994, Rapp 1997). Es gelingt jedoch selten alle Sehnenstrukturen gleichzeitig gut darzustellen (Rapp 1997).



**Abb.4: Sagittale Abbildung der Weichteilstrukturen im proximalen Teil eines Metakarpus**

Im Längsschnitt erscheint die Haut oben liegend, darauffolgend als aufgelockerte Struktur die Unterhaut. Es folgt die oberflächliche Beugesehne mit der darunterliegenden tiefen Beugesehne. Im proximalen Teil des Metakarpus bzw. Metatarsus zieht das Unterstützungsband der tiefen Beugesehne. Als letzte Weichteilstruktur ist der M. interosseus medius zu erkennen. Als weiße Linie stellt sich die Knochengrenze zum Röhreibein dar (Stadtbäumer 1988). Die Längsschnitte zeigen grundsätzlich links den proximalen Gliedmaßenabschnitt (Rapp 1997).



**Abb.5: Sonographisches Bild aus dem proximalen Bereich des Metakarpus im Querschnitt**

Im sonographischen Querschnitt erscheinen im oberen Teil des Bildes proximal die Haut und Unterhaut. Danach dicht aneinander liegend die oberflächliche und tiefe Beugesehne. Zwischen der tiefen Beugesehne und dem M. interosseus medius liegt das Unterstützungsband der tiefen Beugesehne. Vor der Knochengrenze des Metakarpus befindet sich der M. interosseus medius (Stadtbäumer 1988). Bei Querschnittbildern ist generell auf der linken Bildseite der lateral anatomische Anteil der Gliedmaße abgebildet (Rapp 1997).

Bei der Beurteilung von Sehnenstrukturen wird auf die Kontur der Sehne, ihren Durchmesser, ihre Formveränderung und auf ihre Struktur geachtet (Smith et al. 1994). Außerdem werden die umgebenden und alle relevanten Strukturen beurteilt (Genovese et al. 1986). Die longitudinalen Bilder dienen zur Beurteilung von Faserverlauf, Gleichförmigkeit der Struktur und Anheftung an knöcherne Strukturen. Der Querschnitt ist wichtig zur Identifizierung intratendinöser Läsionen sowie zur Beurteilung von Struktur- und Konturveränderungen (Stadtbäumer 1988). Die Kontur der Sehne ist bei Faserzerreißen nicht mehr glatt und scharf (Genovese et al. 1986).

So können mittels der Ultraschalluntersuchung die Lokalisation und das Ausmaß der Läsion festgestellt werden (Genovese et al. 1986, McClellan 1986). Zur Angabe der Lokalisation teilten Rantanen (1986) und Genovese et al. (1986) erstmals den Metakarpus zwischen dem Os carpi accessorium und dem Fesselgelenk in drei Zonen ein, jeweils unterteilt nach A und B. So ergeben sich 6 gleich große Zonen, die als 1A, 1B, 2A, 2B, 3A und 3B bezeichnet werden. Der Metatarsus wird in 4 Zonen, ebenfalls unterteilt nach A und B, gegliedert. Eine andere Methode der Einteilung beschreibt Pugh (1993), der den Metakarpus von proximal nach distal in Zentimeter einteilt.

Außerdem wird die Echogenität der Strukturen anhand ihrer Intensität und Homogenität bewertet. Sonographisch inhomogene Strukturen weisen auf einen pathologischen Zustand hin (Genovese et al. 1986). Strukturdefekte der Sehnen durch Zerreißen von Kollagenfasern mit einhergehenden Blutungen erscheinen als echoarme, hypoechogene Zonen. Diese können im Zentrum (= Core lesion) oder am Rand der Sehne auftreten (Genovese et al. 1986). Die Echogenität ist zudem vom Alter und vom Ausmaß der Verletzung abhängig. Anechogene Bereiche können auch Flüssigkeitsansammlungen, wie Ödeme, Hämatome oder auch Fibrin, darstellen (Hauser et al. 1984). Eine von McClellan (1986) und Genovese et al. (1986) vorgeschlagene Einteilung und Klassifizierung der Strukturdefekte anhand ihrer Echogenität in fünf Typen hat sich durchgesetzt. So können Läsionen schematisiert und dokumentiert (Genovese et al. 1986) und der Heilungsprozess durch wiederholte Untersuchungen bewertet werden (McClellan 1986).

#### **2.4.2.6. Darstellung des M. interosseus medius im Ultraschall**

Die sonographisch Untersuchung hat sich in der Diagnose und Prognose von Verletzungen am M. interosseus medius von großem Nutzen erwiesen (Hauser et al. 1984, Denoix 1994a). Allerdings sind aufgrund der besonderen Anatomie und des histologischen Aufbaus dieser Struktur Fehlinterpretationen möglich (Hauser et al. 1984, Rijkenhuizen et al. 2007). Außerdem erschwert die variable Morphologie des Fesselträgers, vor allem im Ursprungsbereich, bei verschiedenen Pferden die Diagnostik zusätzlich (Lischer et al. 2006).

Der M. interosseus medius stellt sich im Ultraschall in seiner Textur sehr inhomogen dar, weil dort quergestreifte Muskulatur, Fett-, Nerven- und Gefäßgewebe im Vergleich zu Sehnengewebe weniger echogen erscheinen (Hauser et al. 1984,

Genovese et al. 1986, Dyson et al. 2002). Muskelfaserareale, die sich im Bild als hypoechoische Bereiche darstellen, dürfen nicht mit Läsionen verwechselt werden (Lischer et al. 2006). Durch umliegendes lockeres Bindegewebe verliert der M. interosseus medius an seinem Randbereich an Echogenität (Spaulding 1984) und die Abgrenzung zu umliegenden Strukturen wird erschwert (Steyn et al. 1991). Randartefakte von größeren Gefäßen, die über dem M. interosseus medius zu liegen kommen, beeinflussen ebenfalls seine Echogenität (Dyson et al. 2002, Lischer et al. 2006). Wegen der Anordnung der Griffelbeine am Hinterbein sollte zur besseren Darstellung des M. interosseus medius auch von plantaromedial geschallt werden (Lischer 2010). Um weiter distal seine divergierenden Schenkel zu untersuchen, wird der Schallkopf abhängig vom zu untersuchenden Schenkel schräg in mediale oder laterale Richtung gehalten (Spaulding 1984). Zusätzliche laterale und schräge Aufnahmen können das Erkennen von Veränderungen erleichtern (Dik et al. 1991). Bei sehr geringen Veränderungen kann es zweckmäßig sein, das kontralaterale Bein ebenfalls zu untersuchen, um einen direkten Vergleich zu haben (Stadt Bäumer 1988, Steyn et al. 1991). Rapp (1997) und Lischer (2010) empfehlen zur Beurteilung von pathologischen Befunden immer einen Seitenvergleich zur kontralateralen gesunden Gliedmaße.

Pathologien des M. interosseus medius äußern sich im Ultraschall durch Abweichungen in der Echogenität, Veränderungen in Größe, Gestalt, Kontur und Struktur (Genovese et al. 1986, Dyson et al. 2002, Lischer et al. 2006). Die am besten erkennbare Pathologie ist eine Verdickung des M. interosseus medius. Normalerweise besteht zwischen dem M. interosseus medius und dem Röhrlbein ein klarer hypoechogener Bereich, der im Längsschall besonders deutlich wird. Bei Vergrößerungen des M. interosseus medius verschwindet dieser Spalt (Lischer 2010). Akute Veränderungen zeichnen sich aufgrund von Flüssigkeitsansammlungen und Faserzerreißen durch eine geringere Echogenität aus (Hauser et al. 1984). Demzufolge sind hypoechogene oder anechogene Bereiche innerhalb der normalen Struktur Anzeichen für Ödeme, Blutungen, Fibrineinlagerungen oder auch frisches Granulationsgewebe (Genovese et al. 1986). Hyperechogene Bereiche deuten auf fibröses Bindegewebe infolge von Narbenbildung hin (Hauser et al. 1984, Genovese et al. 1986). Solch chronische Veränderungen gehen meist mit einer Verdickung des M. interosseus medius sowie einer Erhöhung der Echogenität einher (Hauser et al. 1984).

Veränderungen des M. interosseus medius im Ursprungsbereich wurden von Dyson (1991, 1994, Dyson et al. 1995) ausführlich beschrieben und stellen sich sonographisch durch Vergrößerung im Querschnitt, verringerte Abgrenzung der Ränder, fokale oder diffuse Bereiche mit reduzierter Echogenität, fokale anechogene Core-lesions oder auch durch fokale Mineralisationen dar. Verletzungen im Ursprungsbereich können außerdem Avulsionsfrakturen des Röhrlbeins einschließen (Hauser et al. 1984). Dyson et al. (1995) stellten fest, dass nur vollständige Avulsionsfrakturen sonographisch erkannt werden können. Bei Pferden mit einer akuten PSD kann eine Verdickung des Fesselträgers die einzige sonographische Veränderung sein (Dyson et al. 2002).

Der Body des M. interosseus medius ist im sonographischen Bild aufgrund des variablen Anteils an Muskelgewebe nicht einheitlich. Sonographisch Befunde können eine Verdickung, Verlust der Begrenzung, fokale hypoechogene Bereiche oder auch eine diffuse Reduktion der Echogenität sein (Dyson et al. 2002). Lischer (2010) charakterisiert eine Desmitis des Fesselträgerkörpers durch Vergrößerung und eine generalisierte Hypoechogenität. Außerdem werden in dieser Region häufig Griffelbeinexostosen geschallt (Lischer 2010).

Verletzungen ein oder beider Schenkel des M. interosseus medius können unabhängig von anderen Teilen des Fesselträgers auftreten (Hauser et al. 1984). Veränderungen der Schenkel zeigen sich im Ultraschallbild durch eine Umfangsvermehrung, Veränderungen in der Form bzw. der Kontur, Verlust der Begrenzung, definierte oder diffuse hypoechogene Bereiche sowie hyperechogene Massen in den Schenkeln (Dyson et al. 2002). Zusätzlich kann sich echogenes Material zwischen den Schenkeln oder subcutan befinden und im Sonogramm zu erkennen sein. Überdies ist es wichtig im Längsschall die Insertion der Schenkel am abaxialen Teil der Gleichbeine zu beurteilen (Lischer 2010).

### **2.4.3. Biopsie**

Die *Biopsie* ist laut Definition die Entnahme einer Gewebeprobe am lebenden Organismus durch Punktion mit einer Hohlnadel unter Anwendung spezieller Instrumente oder operativ mit dem Skalpell (Pschyrembel, 1994).



Im Gegensatz zum Sehngewebe des Pferdes ist bei vielen anderen Organen die Gewinnung und Auswertung eines Gewebebiopsates längst etabliert und liefert routinemäßig wichtige Erkenntnisse über das Zellbild des entsprechenden Gewebes.

Webbon (1982) führte 1982 eine einleitende Studie über die Sehnenbiopsie beim Pferd durch. Er entnahm bei mehreren Ponies unter Vollnarkose nach einem Hautschnitt Sehnenbiopsien der lateralen Strecksehne und der oberflächlichen Beugesehne. Die Biopsien sowie die biopsierten Sehnen wurden bis zu 99 Tage nach der Entnahme histologisch untersucht. Sein Ziel war es, eine zufriedenstellende Biopsieentnahmetechnik zu entwickeln und deren Sicherheit abzuschätzen. Da die Entnahme der Sehnenbiopsien aber zu makroskopischen und histologischen Veränderungen führten, und aufgrund der komplizierten Entnahme unter Vollnarkose, kann Webbon die Sehnenbiopsie nicht für die Routinediagnostik empfehlen.

Becker et al. (2001) versuchten in einer Studie eine neuartige Biopsietechnik zu entwickeln und für den Einsatz zur Untersuchung von Pferdesehnen zu bewerten. Dazu wurden 24 Warmblutfohlen Biopsien aus der peripheren Region der oberflächlichen Beugesehne unter Allgemeinanästhesie entnommen. Die Biopsien, sowie die Sehnen selbst, wurden nach Euthanasie der Fohlen histologisch und ultrastrukturell untersucht. Sie reduzierten die Probengröße im Vergleich zu Webbon (1982) um 1/3. Die nach einem Hautschnitt entnommenen Gewebestücke waren 1cm lang und 0,1 cm dick. Die Biopsate aus dem Randbereich der oberflächlichen Beugesehne waren gut auswertbar. Allerdings war die Entnahme auf die periphere Region der Sehne beschränkt, da Becker et al. (2001) die Entnahme aus dem Zentrum der Sehne als zu invasiv ansahen.

Wagels (2000) erarbeitete in einer Studie eine schonende Methode zur Biopsieentnahme von zentralem Sehngewebe aus der oberflächlichen und tiefen Beugesehne des Pferdes. Die Methode wurde aus der Humanmedizin übernommen und an 22 Pferden getestet. Insgesamt wurden 56 Biopsate mit Hilfe einer Biopsienadel mit einem Durchmesser von 0,9 cm und 2,2 cm Eindringtiefe aus gesunden Beugesehnen gewonnen. Vor und nach der Biopsieentnahme fanden klinische und sonographische Untersuchungen statt. Außerdem wurden die Auswirkungen auf die Sehne klinisch und per Ultraschall bis zu 10 Monate nach der

Entnahme kontrolliert. Die Biopate sowie die bioptierten Sehnen wurden histologisch untersucht.

Die Biopotentnahme fand hier im Gegensatz zu den Untersuchungen von Webbon (1982) und Becker et al. (2001) am stehenden Pferd statt. Die Pferde waren hierfür zum Teil sediert. Pferde, die mehrfach bioptiert wurden, waren bei der ersten Entnahme sediert, bei den weiteren nicht mehr. Diese zeigten keine unterschiedlichen Reaktionen, mit oder ohne Sedation (Wagels 2000). Blutungen im Anschluss an die Biopsie waren geringgradig und durch verletzte Hautgefäße verursacht. Bei 4 Pferden entstand ein Unterhautödem als Reaktion auf die Entnahme. An der Biopotentnahmestelle bildete sich gefäßreiches Granulationsgewebe und der Heilungsverlauf war der Sehnenheilung entsprechend. Die entstandene Läsion hat nach bisherigen Kenntnissen keinen Einfluss auf die spätere Zugfestigkeit der Sehne und die Biopotentstelle war zu keinem Zeitpunkt ultrasonographisch nachweisbar (Wagels 2000). Auch histologisch wurde es in einem größeren zeitlichen Abstand nach der Biopsie schwierig, die Stelle in der Sehne zu finden. Selbst mit Stufenschnitten gelang dies in einigen Biopotenten nicht.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse stuft Wagels (2000) die Sehnenbiopsie für den Einsatz in der Routinediagnostik als geeignet ein. Für eine erfolgreiche Biopotentnahme werden aber einige Faktoren als Voraussetzung genannt:

- Der Einsatz eines modernen Biopotentnahmegerätes
- Die chirurgische Vorbereitung der Entnahmestelle durch Scheren und gründliche Desinfektion
- Ein Einstichwinkel der Biopsienadel von 45-60°, um zu vermeiden, dass Kollagenfasern direkt senkrecht zur Sehnenachse durchtrennt werden
- Ein Straffen der Haut durch den aufhaltenden Helfer
- Ein sofortiges Verbringen des Biopentates in ein Fixierungsmedium
- Ein Aufbringen eines Schutzverbandes mit lokaler antiseptischer Salbe.

In Korrelation mit der vorgenannten Arbeit untersuchte Rühmann (1999) die Auswirkungen der Biopsie auf die Sehne und beurteilte die Auswertbarkeit der Biopate. Die bioptierte Sehne wurde dazu histologisch untersucht. Der Biopsiekanal hatte in keinem Fall den Durchmesser der Biopsienadel von 0,9 cm. Er zeigte immer ein kleineres Kaliber. Bereits nach 4 Wochen befand sich im gesamten Kanal gefäßreiches Granulationsgewebe. Im Verlauf der Heilung war auf einem maximal 2

mm breiten Streifen um den Stichkanal eine fibroblastäre Reaktion zu beobachten. Die gebildeten Kollagenfasern im Kanal begannen sich nach 3 Monaten in Längsrichtung auszurichten. Der Bereich der Entnahme war zum Teil nach 10 Monaten noch fein nachweisbar, konnte aber nicht in allen Fällen dargestellt werden.

Zur Beurteilung der Auswertbarkeit der Bioptate wurden die Gewebeproben histologisch und elektronenmikroskopisch untersucht. Von den 58 gewonnenen Proben enthielten 47 Sehngewebe. Die gewünschte Sehne konnte nicht immer getroffen werden, und das Biopstat enthielt in 11 Fällen Haut und Unterhaut. Histologisch zeigten die Bioptate eine sehr gute Strukturhaltung, so dass eine sichere histologische und elektronenmikroskopische Auswertung erfolgen konnte (Rühmann 1999). Im Elektronenmikroskop kann der Fibrillendurchmesser beurteilt werden und so ist eine Unterscheidung von dicken Kollagentyp-I-Fasern und Kollagentyp-III-Fasern möglich. Rühmann (1999) folgerte aus den Befunden der Bioptate von unveränderten gesunden Sehnen, dass eine sichere histologische und elektronenmikroskopische Auswertung der Bioptate auch bei einer Tendopathie möglich sein müsste und so der Heilungsverlauf während einer Therapie verfolgt und kontrolliert werden könnte.

In Folge dessen erarbeitete Buck (2003) anhand bioptierten Sehngewebes die elektronenmikroskopische Struktur gesunder und erkrankter Pferdesehnen. Die fibrilläre Architektur der Sehnen wurde mit Hilfe eines entwickelten Scoresystems bewertet. Der Vergleich der Scorewerte der gesunden mit der Gesamtheit der erkrankten Sehnen zeigte einen signifikanten Unterschied. Gesundes Sehngewebe kann so eindeutig vom Gewebe erkrankter Sehnen unterschieden werden. Darüber hinaus deuten die rasterelektronenmikroskopischen Befunde dieser Studie bei einem weit fortgeschrittenen oder sogar abgeschlossenen Grad der Heilung darauf hin, dass auf fibrillärer Ebene keine durchgehende parallele Ausrichtung des Narbenkollagens mehr möglich ist (Buck 2003). Bei den Untersuchungen dieser Studie lagen außerdem bei keinem Patient Hinweise dafür vor, dass durch die Biopsie ein Rezidiv entstanden ist. Daher bewertet Buck (2003) die rasterelektronenmikroskopische Biopsieuntersuchung als eine sinnvolle Ergänzung der bisherigen klinischen und sonographischen Diagnosemöglichkeiten in verschiedenen Tendopathiestadien.

## 2.5. Regenerative Therapiemaßnahmen

Band- und Sehnenverletzungen heilen je nach Ausmaß der Läsion unter Bildung eines strukturell und biomechanisch minderwertigen Gewebes (Kall et al. 2004). Das Ziel einer Restitutio ad integrum nach Verletzungen ist nicht erreicht. So bedeuten Band- und Sehnenheilung auch unter optimalen Bedingungen Reparatur und nicht Regeneration (Bosch 2003).

Das *Tissue engineering* ist ein Forschungsgebiet, basierend auf der Verwendung von Zellen, biologischen Faktoren und Biomaterialien – alleine oder in Kombination - mit dem Ziel, zerstörtes Sehngewebe zu regenerieren (Kall et al. 2004, Koch et al. 2009). Die Synthese von Proteinen und der Gewebeumbau sollen durch die Manipulation zellulärer und biomechanischer Mediatoren beeinflusst werden. Es wird beabsichtigt, dadurch die normale Gewebestruktur und die Funktion wieder herzustellen (Kall et al. 2004, Fortier et al. 2008).

### 2.5.1. Adulte mesenchymale Stammzellen (MSC)

Das Knochenmark der Vertebraten enthält neben den für die Rekonstitution des Blutzellpools zuständigen hämatopoetischen Stammzellen auch mesenchymale Zellen mit stammzellähnlichen Eigenschaften. Die Existenz einer derartigen Knochenmarksubpopulation wurde bereits vor über 140 Jahren von dem deutschen Pathologen Conheim angedeutet (Conheim et al. 1867). Ungefähr 100 Jahre später wurden humane multipotente mesenchymale Stromazellen (MSC, *mesenchymal stromal cell*) von Friedenstein et al. (1976) aus dem Knochenmark isoliert und beschrieben. Diese Zellen wurden darauf folgend als plastikadhärent, fibroblastenähnlich und zu Knochenvorläuferzellen, sprich osteogen, differenzierbar bezeichnet. In den 90er Jahren charakterisierte Caplan (1991) diese Zellpopulation weiter und bezeichnete sie als „mesenchymale Stammzelle“. In weiteren Studien konnte später gezeigt werden, dass es sich hierbei um eine eigenständige, aber heterogene Zellpopulation handelte, die in der Lage war, verschiedenen Zelltypen, wie Chondrozyten, Myoblasten oder Tendozyten zu differenzieren (Prockop 1997). Es stellte sich heraus, dass diese knochenmarkabgeleitete Population nicht-hämatopoetischen Ursprungs und multipotente Stromazellen waren. Der ursprünglich verwendete Begriff der „mesenchymalen Stammzelle“ musste präzisiert werden. Zwar waren Eigenschaften der MSC, wie Selbsterneuerung, die Fähigkeit in vivo

multiple Zelltypen zu differenzieren und die Regenerationsfähigkeit von verschiedenen Geweben unbestritten, aber es existiert bisher kein Nachweis des langlebigen *Engraftments* nach Transplantation. Um weitere Konfusionen zu vermeiden und auch im Sinne der Vergleichbarkeit durchgeführter Studien mit MSC, wurde daher 2005 von der *International Society for Cellular Therapy* (ISCT) der Begriff der „multipotenten mesenchymalen Stromazelle“ vorgeschlagen und verbreitet. Das Akronym MSC sollte dabei weiterhin Bestand haben (Horowitz et al. 2005, Dominici et al. 2006). In der tiermedizinischen Fachliteratur wird aber hauptsächlich der Begriff „mesenchymale Stammzelle“ verwendet (Herthel 2001, Herthel 2003, Smith et al. 2003, Mountford et al. 2006, Taylor et al. 2007, Del Bue et al. 2008, Koch et al. 2008, Schnabel et al. 2009, Colleoni et al. 2009). So verwenden viele Untersucher den Begriff „mesenchymale Stammzelle“, auch wenn etliche dieser Studien mit mesenchymalen Stromazellen durchgeführt wurden. So übertrugen Guest et al. (2010) in ihrer Einleitung den Begriff der mesenchymalen Stromazelle 1:1 auf die bis dato in der Literatur verwendete Definition „mesenchymale Stammzelle“. Im Schrifttum bestehen demnach Kontroverse und immer noch verschiedene Definitionen als Stamm- oder Stromazelle.

Trotzdem werden adulte MSC als attraktive Kandidaten für zellbasierendes Tissue engineering betrachtet (Bosch 2003, Arnhold et al. 2007, Giovannini et al. 2008) und zunehmend in der Therapie orthopädischer Erkrankungen bei Pferden eingesetzt (Colleoni et al. 2009).

#### **2.5.1.1. Einteilung und Eigenschaften der MSC**

Stammzellen allgemein sind undifferenzierte Zellen und können nach der Gewinnung aus dem jeweiligen Entwicklungsstadium in frühembryonale, späteembryonale und adulte Stammzellen eingeteilt werden. Frühembryonale Stammzellen werden als *totipotent* Zellen bezeichnet und sind noch in der Lage, alle Zellen des Körpers sowie ganze Organe zu bilden (Koch et al. 2008). Späteembryonale Stammzellen werden als *pluripotent* betrachtet und können sich in Zellen und Organe aller drei Keimblätter entwickeln. Embryonale Stammzellen finden keine Anwendung in der Pferdeorthopädie, da sie das Risiko der Übertragung von Teratomen bergen (Weinberger 2008).

Adulte Stammzellen sind postnatalen Ursprungs und befinden sich durchweg in reifem Gewebe. Sie werden als *multipotent* bezeichnet und können Zellen

mesodermaler Herkunft bilden. Je nach Herkunftsgewebe erfolgt die Einteilung in *hämatopoetische*, *mesenchymale* und *gewebeständige* Stammzellen. MSC können aus dem Knochenmark gewonnen werden (Koch et al. 2008). Sie sind Bestandteile des Knochenmarkstromas, wodurch auch der Begriff der *Stromazelle* geprägt wurde. Neben der Isolierung von MSC aus dem Knochenmarkstroma des Sternums (Smith et al. 2003, Arnhold et al. 2007, Hopper 2007, Lactignola et al. 2008, Schnabel et al. 2009) sowie des Beckenkamms (Colleoni et al. 2009) konnten bei Pferden MSC aus adultem Fettgewebe (Del Bue et al. 2008, Dahlgren 2009, Colleoni et al. 2009), Skelettmuskulatur und anderen Geweben (Fortier et al. 1998) gewonnen und angezüchtet werden.

In zahlreichen Untersuchungen wurden die Charakteristika der aus dem Knochenmarkstroma von Pferden isolierten und kultivierten MSC dargelegt (Fortier et al. 1998, Arnhold et al. 2007, Goletz 2009, Colleoni et al. 2009).

Das Hauptcharakteristikum der MSC ist ihr Differenzierungspotential in verschiedene Gewebetypen, wie Knochen, Knorpel, Herz- und Skelettmuskulatur, Sehnen, Binde- und Fettgewebe (Pittenger et al. 1999).

Verschiedene Autoren haben equine MSC charakterisiert und ihr Differenzierungspotential Richtung Fett-, Knorpel- und Knorpelgewebe demonstriert (Fortier et al. 1998, Koerner et al. 2006, Arnhold et al. 2007). Im Vergleich zu diesen Differenzierungswegen ist wenig über den Signalweg bei der Sehnenmatrixbildung bekannt und Studien in dieser Richtung sind aufgrund des Mangels an einzigartigen Markern für Sehnenmatrix begrenzt (Taylor et al. 2007). Die Bildung von Sehnenmatrix zeigt sich anhand der histologischen Erscheinung von longitudinal ausgerichteten Kollagenfasern und der Anwesenheit von Kollagen Typ I und III sowie COMP (Taylor et al. 2007).

Der Nachweis der Pluripotenz ist von entscheidender Bedeutung und die Grundlage für die therapeutische Implantation der Zellen. Goletz (2009) untersuchte die Pluripotenz von equinen MSC, basierend auf ihrer Kapazität, sich in Knorpel-, Knochen- und Fettgewebe zu differenzieren, vor und nach Kryokonservierung. Eine Konservierungszeit von 1,5 Jahren wurde von 88,68% der Zellen überlebt und sie zeigten keine Abweichungen in der Morphologie und ihrem Proliferationsverhalten. Im Rahmen der immunhistochemischen Charakterisierung der equinen MSC konnte

gezeigt werden, dass die Zellen extrazelluläre Matrixproteine wie Fibronectin, Perlecan und Kollagen IV sowie  $\beta_1$ -Integrin exprimieren.

Darüberhinaus produzieren MSC verschiedene Wachstumsfaktoren, Interleukine und andere Zytokine (Ryan et al. 2005, Taylor et al. 2007).

### **2.5.1.2. Immunmodulatorische Eigenschaften der MSC**

Die Immunogenität der adulten MSC ist noch nicht komplett verstanden, aber diese Zellen erscheinen aus immunologischer Sicht privilegiert (Niemeyer et al. 2004). Sie sind negativ für das Oberflächenantigen MHC-II und werden aufgrund dessen nicht vom Immunsystem als fremd erkannt (Le Blanc et al. 2003, Niemeyer et al. 2004). 90% der Zellen waren bei den Untersuchungen von Niemeyer et al. (2004) für das Oberflächenantigen MHC-I positiv, aber die alleinige Expression von MHC-I an der Zelloberfläche genügte nicht, um eine Immunantwort zu induzieren. MSC unterdrücken eine T-Zell-Aktivierung und –Proliferation in vitro und in vivo (Aggarwal et al. 2005, Caplan et al. 2006, Guest et al. 2008, Xue et al. 2010). Undifferenzierte und differenzierte MSC können stimulierte Lymphozyten in ihrer Proliferation hemmen (Di Nicola et al. 2002, Le Blanc et al. 2003, Niemeyer et al. 2004, Aggarwal et al. 2005). Dieser Effekt scheint über die Sekretion von TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor) und HGF (Hepatocyte Growth Factor) als auch über direkten Zell-Zell-Kontakt vermittelt zu werden (Di Nicola et al. 2002).

Schnabel et al. (2009) konnten diesen entzündungshemmenden Effekt der MSC im Rahmen der Sehnenheilung in vivo ebenfalls beobachten. Die Zytokine TNF- $\alpha$  (Tumor Nekrose Faktor) und IFN- $\gamma$  (Interferon), die bei der Entzündungskaskade eine wichtige Rolle spielen, werden durch MSC gehemmt (Aggarwal et al. 2005). Diese in Studien beobachteten immunmodulatorischen Eigenschaften der MSC deuten eine potentielle Verwendung von allogenen MSC an.

### **2.5.1.3. Einsatz von MSC bei Sehnenschäden beim Pferd**

Inzwischen gibt es einige experimentelle Ansätze zur Verwendung von MSC aus dem Knochenmarkstroma zur Therapie von Sehnenschäden beim Pferd (Smith et al. 2003, Crovace et al. 2007, Smith 2008, Lactignola et al. 2008, Guest et al. 2008, Schnabel et al. 2009). In all diesen Studien wurden Verletzungen der oberflächlichen Beugesehne (OBS) untersucht.

Über die Verwendung von autologen MSC beim Pferd wurde erstmals von Smith et al. im Jahre 2003 berichtet. Sie beschrieben in ihrem Report eine Technik, equine MSC aus Knochenmarkaspiraten zu isolieren, in vitro zu kultivieren und anschließend in natürlich entstandene Sehnenschäden beim Pferd zu implantieren. Sie injizierten diese autologen MSC in spontan entstandene Core lesions in die OBS eines Poloponys. Mit diesem Fall zeigten sie die Durchführbarkeit der therapeutischen Benutzung von in vitro kultivierten MSC. Im weiteren Verlauf dieser Studie behandelten sie 6 Fälle auf diese Weise.

Crovace et al. (2007) kreierten in ihrer Studie kollagenaseinduzierte Sehnenschäden in jeweils 3 von 4 OBS bei insgesamt 3 Pferden. Die Läsionen wurden mit isolierten, kultivierten MSC der frisch abzentrifugierten Zellfraktion von Knochenmarkaspiraten und einem Placebo behandelt. Nach 21 Wochen wurden die 12 behandelten Sehnen histologisch und immunhistochemisch untersucht. Crovace et al. (2007) berichteten, dass in den Untersuchungen bei den MSC behandelten Sehnen eine normale Sehnenarchitektur mit Kollagen Typ I zum Vorschein kam, während bei den Placebo-behandelten Sehnen eine Organisation mit Kollagen Typ III beobachtet wurde.

Lactignola et al. (2008) berichteten über die Wirkung von kultivierten MSC in kollagenaseinduzierten Tendinitismodellen beim Schaf und beim Pferd sowie über die Regeneration von verletztem Sehngewebe bei spontanen Läsionen beim Pferd. Die histologischen und immunhistochemischen Untersuchungen zeigten bei den MSC-behandelten Sehnen eine qualitativ verbesserte Sehnenextrazellulärmatrix in Form von Kollagen Typ-I - Gehalt, Faserorientierung und COMP-Expression.

Smith (2008) behandelte akute OBS-Läsionen von 168 Rennpferden durch Injektion von autologen, aus dem Knochenmark des Sternums isolierten und kultivierten MSC, mit anschließendem 48 wöchigen Rehabilitationsprogramm. Danach kehrten alle Pferde zu vollem Einsatz zurück. Bei 18% der Pferde trat ein Rezidiv auf.

Unter Benutzung eines kollagenaseinduzierten Sehnenschadenmodells beim Pferd untersuchten Schnabel et al. (2009) die Effekte von autologen, kultivierten MSC und mit IGF-I (Insulin-like Growth Factor) gesteigerte MSC auf die Sehnenheilung in vivo. Mittels Kollagenaseinjektion wurden bei 12 Pferden an beiden Vorderbeinen Läsionen in die OBS induziert. Die Pferde dienten als ihre eigenen Kontrollen, indem ein Vorderbein behandelt, und in die Läsion des anderen Vorderbeines ein Placebo injiziert wurde. 6 Pferde erhielten isolierte, autologe MSC in die Läsion der OBS. 8



Wochen lang fanden im 2 Wochen Abstand sonographisch Untersuchungen statt. Die Pferde wurden 8 Wochen nach Behandlung euthanasiert und die Sehnen unterlagen biomechanischen, biochemischen, histologischen und molekularbiologischen Untersuchungen. In diesem Rahmen wurden mittels PCR-Untersuchungen der Gehalt an Kollagen-Typ I und III, COMP und IGF-I als Indikator für Sehnenmatrixsynthese bestimmt. Zwei geblindete Untersucher bestimmten immunhistochemisch die Kollagen-Typ I Verteilung. Es konnten keine signifikanten Unterschiede in den Ultraschall-Parametern zwischen den mit MSC-behandelten Sehnen und ihrer jeweiligen Kontrolle während der 8 wöchigen Heilungsphase festgestellt werden. Hingegen zeigten die MSC-behandelten Sehnen verbesserte histologische Werte und einen Trend Richtung verbesserter biomechanischer Eigenschaften in der frühen Phase nach der Verletzung. Schnabel et al. (2009) vermuten den dominierenden Effekt der MSC im Rahmen der Sehnenheilung in einer Organisation der Sehnenstruktur.

#### **2.5.1.4. Allogene Transplantationsmöglichkeiten der MSC**

MSC zeigen eine geringe Immunität und haben immunmodulatorische Funktionen. MSC aus dem Knochenmarkstroma sind in der Lage, die T-Zell-Aktivierung und die Proliferation zu unterdrücken (Koch et al. 2008, Ding et al. 2010, Xue et al. 2010). In vitro Beobachtungen haben eine positive klinische Reaktion auf die MSC-Injektion im Rahmen der Prävention und Behandlung von *Graft-versus-host-disease* gezeigt (Tian et al. 2008). Aufgrund dieser Eigenschaften werden sie als eine vielversprechende therapeutische Hilfe in der allogenen Zelltransplantation betrachtet (Del Bue et al. 2008) und haben zu Untersuchungen über den Nutzen der MSC für Erkrankungen entzündlichen und immunologischen Ursprunges geführt (Tian et al. 2008). In der Humanmedizin werden bereits neben autologen auch allogene MSC zur Behandlung von Leukämie, soliden Tumoren und anderen Erkrankungen eingesetzt (Koch et al. 2008, Koch et al. 2009, Giebel et al. 2009). Kinder, die an Erbkrankheiten leiden, haben allogene MSC aus Knochenmark oder Nabelschnurblut intravenös verabreicht bekommen, um eine normale Knochenmarks- und Blutbildungsfunktion wieder herzustellen. Diese Übertragung war ohne erkennbare immunologische Reaktionen möglich (Copelan 2006). Die Möglichkeit der Verwendung von allogenen MSC wurde bereits auch bei anderen Spezies gezeigt (Ryan et al. 2005, Barry et al. 2009, Crovace 2009). Forscher sehen in der Verwendung von allogenen MSC bei der Behandlung von Sehenschäden

beim Pferd Vorteile (Taylor et al. 2007, Del Bue et al. 2008). Über ein erstes Pilotprojekt über die Verwendung von allogenen MSC bei Läsionen der OBS beim Pferd berichteten Guest et al. (2008). Sie injizierten aus Knochenmark isolierte, mit einem grünen Fluoreszenzfarbstoff markierte autologe und allogene MSC in chirurgisch induzierte Läsionen der OBS bei 2 Pferden. Das andere Bein des Pferdes diente jeweils als Kontrolle. Während dieser 30-Tage Studie konnten keine signifikanten entgegenwirkenden Reaktionen beobachtet werden. Es gab keine sichtbaren äußeren Entzündungszeichen. In der histologischen Untersuchung konnten keine Unterschiede in der Dichte der Leukozyten zwischen autolog und allogenen behandelten Läsionen festgestellt werden. Diese Pilotstudie war nicht konzipiert, um eine Behandlungseffizienz zu untersuchen, sondern lediglich eine mögliche Verwendung von allogenen MSC beim Pferd aufzuzeigen.

Hingegen berichteten Del Blue et al. (2008) über die Zelltherapie bei Sehnenschäden mit aus dem Fettgewebe isolierten, allogenen MSC beim Pferd. 3 Pferde dienten als Spender für die MSC, bei denen Fettgewebe entnommen und daraus im Labor MSC isoliert und angezüchtet wurden. Bei insgesamt 16 Versuchspferden wurden diese allogenen MSC in Kombination mit autologem PRP unter Ultraschallkontrolle direkt in die Läsion der geschädigten Sehne injiziert. Keines dieser Pferde zeigte Komplikationen nach der Injektion. 14 Pferde kehrten nach der Behandlung zu ihrer ursprünglichen Leistung zurück.

Diese Ergebnisse unterstützen die Verwendung von allogenen MSC in der regenerativen Medizin (Taylor et al. 2007).

### **2.5.2. Platelet Rich Plasma (PRP)**

Platelet Rich Plasma (PRP) bezeichnet ein Ultrakonzentrat von Thrombozyten, das eine hohe Konzentration an Wachstumsfaktoren enthält (Waselau et al. 2008). Verschiedene Hersteller bieten Sets zur Gewinnung des PRP an. Durch einen speziellen Zentrifugationsprozess von venösem Blut wird das PRP gewonnen (Zachos et al. 2005).

PRP-Konzentrate werden in der Humanmedizin schon seit vielen Jahren eingesetzt. Erstbeschreibungen von der Verwendung abzentrifugierten Eigenblutes findet man in Veröffentlichungen der humanen Zahnmedizin (Schulte 1969). Whitman et al. (1997) beschrieben als erste die Herstellung von PRP mit dem Ziel der beschleunigten knöchernen Regeneration in der Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie.

Die Verwendung von PRP beruht auf der in vitro nachgewiesenen Wirkung der Wachstumsfaktoren, wie PDGF, FGF, TGF- $\beta$ , VEGF, IGF-I, EGF (Chang et al. 1997, Schnabel et al. 2007, Ionita 2010). Durch Aktivierung werden diese Wachstumsfaktoren aus den  $\alpha$ -Granulen der Thrombozyten abgegeben und bewirken eine Zelldifferenzierung, Proliferation, eine gesteigerte Vaskularisierung und erhöhen den Kollagen- sowie DNA-Gehalt (Murphy et al. 1997, Dahlgren et al. 2001, Dahlgren et al. 2002, Mishra et al. 2009, Bosch et al. 2010b, Ionita 2010). Außerdem konnte bei PRP eine antimikrobielle Wirkung gegen *Staphylococcus aureus* und *E. coli* und analgetische Eigenschaften beobachtet werden (Ionita 2010).

Seit 2003 erhält PRP auch Einzug in die Pferdemedizin, hier unter anderem auch im Rahmen der Band- und Sehnenheilung. In vitro Studien über den Effekt von PRP auf explantiertes Gewebe aus equinen Bändern und Sehnen demonstrierten die gesteigerte Transkription von anabolischen Genen sowie die Sekretion von Proteinen wie COMP (Murphy et al. 1997, Smith et al. 2006, Schnabel et al. 2007, Schnabel et al. 2008).

Schnabel et al. (2007) kultivierten isolierte Tendozyten von oberflächlichen Beugesehnen vom Pferd unter anderem in PRP. Im Vergleich mit der Kontrollgruppe, zeigt PRP eine signifikante Erhöhung der mRNA-Expression von Kollagen-Typ I und III sowie COMP.

Murphy et al. (1997) untersuchten in vitro die Effekte von IGF-I auf normale OBS-Sehnenkulturen vom Pferd. In allen Dosierungen der Behandlungsgruppen war die Kollagensyntheserate gestiegen. Verglichen mit den unbehandelten Kontrollen enthielten die behandelten Kulturen größere Zahlen an Fibroblasten, die im Vergleich auch metabolisch aktiver waren. Histologisch war ein Unterschied in der Zellmorphologie zwischen den behandelten und unbehandelten Gruppen zu erkennen. In immunhistochemischen Schnitten mit Antikörpern gegen Kollagen Typ-I und III enthüllten die Zellkulturen hauptsächlich Kollagen Typ-I.

Smith et al. (2006) entnahmen Proben vom M. interosseus medius von Pferden mit deutlichen Anzeichen einer Desmitis des M. interosseus medius. Sie züchteten diese Zellen in vitro im Vergleich mit Knochenmarkaspirat, PRP und Serum an. Die metabolische Antwort der Fibroblasten wurde durch Messungen der COMP-Synthese mittels ELISA bewertet. Es gab in allen Behandlungsgruppen einen Anstieg in der COMP-Produktion, aber die durchschnittliche Produktion war in der Knochenmarkaspirat-Gruppe signifikant höher.

Schnabel et al. (2008) führten eine ähnliche in vitro Studie durch. In der PRP-Gruppe waren die Konzentrationen an TGF- $\beta$ 1 und PDGF im Vergleich zu den anderen Produkten signifikant höher. Die Kulturen mit 10% PRP hatten den höchsten totalen Kollagengehalt.

Insgesamt stimmten die Ergebnisse in den Untersuchungen von Smith et al. (2006) und Schnabel et al. (2008) miteinander überein und zeigten, dass viele Behandlungen die Matrixsynthese stimulieren.

Bosch et al. (2010a, b) führten eine kontrollierte in vivo Studie durch, um zu untersuchen, ob eine einzige Behandlung mit PRP die Qualität einer Sehnenreparatur verbesserte. Sie setzten bei 6 Pferden an beiden Vorderbeinen chirurgisch Läsionen in die OBS. Das eine Bein wurde intratendinös mit PRP behandelt, das andere Bein diente als Kontrolle. Hier wurde in die Läsion der OBS Kochsalzlösung als Placebo injiziert. Nach 24 Wochen wurden die Pferde euthanasiert und die Sehnen biomechanisch, biochemisch und histologisch untersucht. Der Kollagen-, Glykosaminoglykan- und DNA-Gehalt war in den PRP-behandelten Sehnen höher als in der Placebo-Gruppe. Bei biomechanischen Versagens-Tests und in elastischen Modellen war im Vergleich bei den PRP-behandelten Sehnen bis zur Ruptur eine größere Kraft notwendig, als bei den Kontrollsehnen. Histologisch zeigten die PRP-Sehnen ein besser organisiertes Kollagen-Netzwerk und Anzeichen einer gesteigerten metabolischen Aktivität. Van Weeren (2009) sieht in der PRP-Applikation eine nutzbringende Behandlung bei Sehenschäden sowie eine Alternative zur Stammzelltherapie.

### **2.5.3. Einsatz von regenerativen Therapien beim M. interosseus medius beim Pferd**

Die überwiegende Zahl der Studien über den klinischen Einsatz von MSC bei Sehnenschäden beim Pferd wurde an der oberflächlichen Beugesehne durchgeführt. Da es im Rahmen der Heilung von Fesselträgerschäden zur Ausbildung eines kollagenen Narbengewebes kommt, und dieses Gewebe in seinen mechanischen Eigenschaften dem ursprünglichen Gewebe unterlegen ist sowie die verletzte Region für Rezidive anfällig macht (Webbon 1973, Smith et al. 2006), steht hier eine starke Forderung nach neuen Therapiemaßnahmen in Raum. Bisher gibt es aber nur wenige Versuche neue regenerative Therapiekonzepte, die Regeneration anstelle von Reparation fördern sollen, bei Pferden mit einer Desmitis des M. interosseus medius anzuwenden (Herthel 2001, Herthel 2003, Rosenbrock et al. 2004, Smith et al. 2006, Schnabel et al. 2008, Waselau et al. 2008, Argüelles et al. 2008, van Weeren et Bosch 2009).

Der erste Bericht über eine Anwendung solcher Therapien bei einer großen Population von Pferden mit einer natürlich entstandenen Desmitis des M. interosseus medius stammt von Herthel im Jahre 2001. In der Zeit von 1995 bis 1998 behandelte er 100 Pferde verschiedener Rassen und verschiedener Nutzungsrichtungen durch intraläsionale Injektionen von Knochenmarkspiraten aus dem Sternum. Über einen Zeitraum von 6 Monaten fanden in regelmäßigen Abständen klinische und sonographisch Kontrollen statt. 84% der Pferde kehrten nach 6 Monaten zu ihrem vollen Einsatz und ihrem vorherigen Leistungsstand zurück. Herthel (2001, 2003) beschreibt in der sonographischen Verfolgung der Fesselträgerheilung eine verbesserte Qualität des Faserverlaufes, eine Abnahme des Querschnittes und eine Zunahme der Echogenität.

Über eine ähnliche Studie berichteten Rosenbrock et al. (2004). Sie führten bei 24 Pferden mit einer Fesselträgererkrankung eine intraläsionale Übertragung von autologem, nativem Knochenmark als Monotherapie durch. Von den 24 Pferden waren nach 6 Monaten 75% wieder in vollem Training. Bei einem Pferd trat nach 6 Monaten ein Rezidiv auf und zwei Pferde zeigten keine Veränderung der Lahmheit.

Mountford et al. (2006) beschrieben ein Fallbeispiel, indem sie die anatomisch pathologischen und histologischen Befunde eines lateralen Fesselträgerastes, der mit MSC behandelt wurde, mit dem jeweils unbehandelten lateralen Ast der

kontralateralen Gliedmaße verglichen. Sie verwendeten kultivierte, autologe MSC, die sie in die Kernläsion des entzündeten Schenkels des M. interosseus medius implantierten. Im Vergleich zeigte der behandelte Schenkel sonographisch, pathoanatomisch und histologisch Anzeichen einer verbesserten Heilung und Bildung eines sehnenähnlichen Gewebes.

Aufgrund der *in vitro*-Ergebnisse von Thrombozytenkonzentraten und Wachstumsfaktoren wurde PRP auch bereits *in vivo* Studien beim Pferd angewandt. Waselau et al. (2008) sahen in PRP ein Potential, Bandheilung in Pferden zu unterstützen, und injizierten PRP mit bovinem Thrombin in M. interosseus medius-Läsionen bei 9 Trabrennpferden. Die Verletzungen waren bei Behandlung im Durchschnitt 4 Wochen alt. Es konnten keine assoziierten Komplikationen mit der intraläsionalen Injektion von PRP beobachtet werden. Nach der Injektion unterlagen alle Pferde einem kontrollierten Bewegungsaufbauprogramm. Alle Pferde kehrten nach dieser Behandlung zur Rennleistung zurück.

Argüelles et al. (2008) beschreiben die Ergebnisse von Behandlungen mit PRP bei 5 Pferden mit Sehnen- und Bandverletzungen. Unter Ultraschallkontrolle wurde PRP in die Läsionen von 2 Pferden mit OBS-Schäden und von 3 Pferden mit PSD, 3mal im Abstand von 2 Wochen injiziert. Bei den 3 Pferden mit einer chronischen PSD konnte im Ultraschall keine Verbesserung beobachtet werden. Der Lahmheitsgrad der Pferde verbesserte sich aber klinisch und die Pferde kehrten zu dem Leistungsniveau vor ihrer Verletzung zurück.

Da im Hinblick auf einen routinemäßigen Einsatz von MSC und anderen regenerativen Therapiemöglichkeiten in der Pferdemedizin eine starke Forderung nach kontrollierten Studien mit Kontrollgruppe im Raume steht (Taylor et al. 2007, Goletz 2009, Koch et al. 2009), vor allem auch im Zusammenhang mit Fesselträgerschäden, wurde diese kontrollierte klinische und sonographisch Studie entwickelt, und der Einfluss von regenerativen Therapien auf die Heilung des M. interosseus medius beim Pferd untersucht.

### **3. Eigene Untersuchungen**

#### **3.1. Material und Methoden**

##### **3.1.1 Patientengut**

Es wurden insgesamt 30 Pferde mit einer vordiagnostizierten Desmitis des Musculus interosseus in die Studie aufgenommen und untersucht. Im Rahmen der Vordiagnose waren durch einen Tierarzt durchgeführte Lahmheitsuntersuchung sowie eine Ultraschalluntersuchung mindestens Voraussetzung. Bei dieser sollte mindestens eine Läsion des Typs II vorliegen. Es lagen keine besonderen Auswahlkriterien bezüglich der Rasse, des Alters, des Geschlechtes oder der Nutzungsart vor. Die einzige Voraussetzung war eine feststehende Diagnose über eine Erkrankung des Fesselträgers. Hier waren auch der zeitliche Verlauf sowie der Grad der Erkrankung für die Aufnahme in die Studie nicht von Bedeutung.

##### **3.1.2 Klinische Untersuchung der Probanden**

Die Pferde wurden vor der Behandlungsmaßnahme eingehend untersucht. Es wurden Name, Rasse, Alter, Geschlecht, Kennzeichen und Nutzungsrichtung erfasst und in einem Protokoll dokumentiert. Der bisherige Verlauf sowie Dauer der vorhandenen Erkrankung des Fesselträgers wurde anhand des Vorberichtes rekonstruiert. Die Pferde sowie die betroffenen Gliedmaßen wurden zur vollständigen Dokumentation fotografiert.

Im Rahmen der speziellen klinischen Untersuchung wurde an der stehenden und der aufgehobenen Gliedmaße der gesamte Fesselträgerbereich adspektorisch und palpatorisch untersucht. Hierbei wurde auf die Sehnenkontur, Umfangsvermehrung, Konsistenz, Schmerzhaftigkeit, Wärme, Verschiebbarkeit der Strukturen untereinander sowie der Verschiebbarkeit der Haut geachtet. Außerdem wurden die Stellung der Gliedmaßen und der Hufe sowie der Hufbeslag eingehend betrachtet.

Es folgte die Lahmheitsuntersuchung nach Adams (Stashak 1989) mit einer Adspektion in der Bewegung. Hierzu wurden die Pferde im Schritt und Trab zuerst

auf hartem Untergrund auf gerader Linie vorgeführt. Hier wurde auch auf die Art der Fußung geachtet. Im Anschluss erfolgte ein Vorführen des Pferdes im Schritt und Trab an der Longe auf gebogener Linie auf weichem Untergrund. Die vorhandene Lahmheit wurde beurteilt und nach ihrer Art in eine Stützbein-, Hangbein- oder gemischte Lahmheit differenziert. Außerdem wurde sie in Grade eingestuft und nach folgendem Einteilungsschema dokumentiert:

**Tab.1: Einteilungsschema der Lahmheitsgrade**

<b>Grad</b>	<b>Abkürzung</b>	<b>Beschreibung</b>
0	-	Keine Lahmheit
1	+/-	undeutlich: undeutlich sichtbare Taktunreinheit bzw. Lahmheit im Trab
2	+	geringgradig: im Schritt keine, im Trab erkennbare Lahmheit
3	++	mittelgradig: im Schritt erkennbare, im Trab deutliche Lahmheit
4	+++	hochgradig: starke Lahmheit im Schritt

Auf eine Beugeprobenuntersuchung sowie einer Infiltrationsanästhesie wurde im Rahmen dieser klinischen Untersuchung verzichtet, da die Pferde diese Untersuchungen bereits während der diagnostischen Maßnahmen im Vorfeld durchlaufen hatten und mit einer gesicherten Diagnose in die Studie aufgenommen worden waren.

Nach einer Allgemeinuntersuchung und Beurteilung des Kreislaufapparates wurde im Rahmen der kontrollierten Studie jedem Pferd 18ml Blut - durch Punktion der Vena jugularis externa unter Beachtung steriler Kautelen in einer Spritze mit 2ml Gerinnungshemmer - abgenommen. Zu diesem Zweck wurde ein Quadrat von ca. 2x2cm im oberen Drittel der Vena jugularis externa freigeschoren, gereinigt und



desinfiziert. Das so gewonnene Blut wurde für die Behandlung mit autologem Thrombozytenkonzentrat oder für die Placebo-Applikation weiter behandelt. Im Falle einer Stammzellbehandlung wurde es verworfen. Anschließend wurden die Pferde für die weitere Untersuchung mit dem Wirkstoff Detomidinhydrochlorid in der Dosierung 0,01mg/kg Körpergewicht sediert.

### **3.1.3 Sonographische Untersuchung**

#### **Technische Ausrüstung**

Die Untersuchung erfolgte mit dem Ultraschallgerät „Scanner Pie Medical Ixos Vet“ mit einer 4cm breiten 7,5 MHz Linear-Sonde.

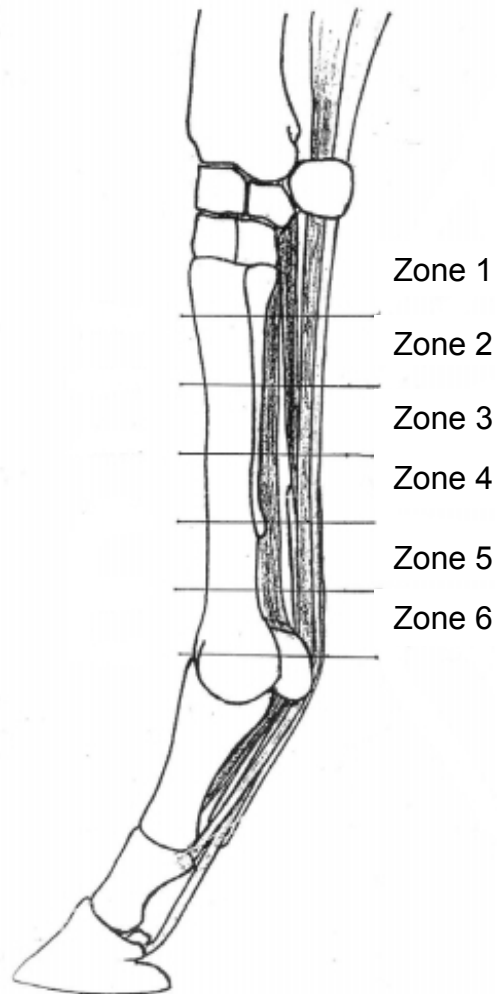
Für die bildgebende Dokumentation stand der mit dem System verbundene Thermodrucker „Mitsubishi P91“ zur Verfügung. Zudem wurde die sonographische Untersuchung mit Hilfe des Programms „Pinnacle Mediacenter“ im Videoformat aufgezeichnet und abgespeichert. Hierfür war ein Notebook der Firma „Toshiba“ über den Videoausgang mit dem Ultraschallgerät verbunden.

#### **Vorbereitung des Pferdes**

Vor Beginn der Ultraschalluntersuchung wurde das zu untersuchende Bein geschoren. An der Vordergliedmaße wurde an der Palmarfläche des Röhrbeinbereiches zwischen Karpal- und Fesselgelenk, an der Hintergliedmaße an der Plantarfläche zwischen Tarsal- und Fesselgelenk geschoren. Danach wurde der Bereich mit Wasser gereinigt und anschließend das Ultraschallgel der Firma „Serumwerk Bernburg AG“ aufgebracht.

#### **Durchführung der sonographischen Untersuchung**

Die distale Gliedmaße wurde für die Untersuchung orientierend an der Einteilung von Genovese et al. (1986) in 6 Zonen eingeteilt. So war eine genaue Kennzeichnung und Dokumentation möglich, um auch bei späteren Nachuntersuchungen zu wissen, in welchem Bereich die Veränderung lokalisiert war.



**Abb.6: schematische Darstellung der Zoneneinteilung der distalen Gliedmaße (modifiziert nach van Preyss 2008)**

Die Untersuchung fand in einem abgedunkelten Raum statt, um störende Lichtspiegelungen auf dem Bildschirm zu reduzieren.

Der Schallkopf wurde mit einer Vorlaufstrecke ausgestattet. Dieser wurde auf der palmaren bzw. plantaren Seite der Gliedmaße erst sagittal, dann transversal von proximal nach distal geführt. Die Fesselträgerschenkel wurden zusätzlich zur besseren Beurteilung in Schrägprojektion untersucht.

Eine erste Beurteilung fand anhand des Quer- und Längsschnittes auf dem Bildschirm statt. Es wurden Lokalisation, Struktur, Echogenität und das Ausmaß der Läsion beurteilt. Außerdem wurden Abweichungen der Kontur und Veränderungen

des Bereiches zwischen den Sehnen und der Haut (paratendinöse Veränderungen) dokumentiert.

Die Lokalisation der Läsion wurde mit Hilfe der Zoneneinteilung der distalen Gliedmaße im Protokoll festgehalten. Die Struktur wurde anhand der Echogenität beurteilt. Diese kann echoreich, isoechoisch oder echoarm bis sogar echofrei sein.

Im Querschnitt wurden auf diese Weise fokale und diffuse Läsionen unterschieden. Bei den fokalen Läsionen war eine deutliche Abgrenzung vom restlichen Gewebe zu erkennen. Bei den diffusen Veränderungen war ein Großteil des Musculus interosseus aufgelockert. Das Ausmaß der Läsion wurde im Querschnitt beurteilt und nach folgendem von GENOVESE et al. (1986) und McCLELLAN (1986) vorgeschlagenem Einteilungsschema der Strukturdefekte eingestuft.

**Tab.2: Einteilungsschema des Läsionsausmaßes**

Typ	Echogenität der Struktur	Ausmaß der Läsion in %
0	Normale Echogenität	0
I	Geringgradig echoarm	1-25
II	Zu gleichen Teilen echoarm und echoreich	26-50
III	Zum größten Teil echoarm	51-75
IV	Vollständig echoarm	76-99
V	Komplette Ruptur	100

Im Längsschnitt wurde der Faserverlauf sowie die Anheftung des M.interosseus an den knöchernen Strukturen beurteilt.

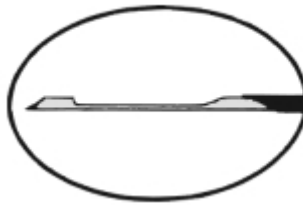
Die repräsentativste Darstellung der Horizontal- und Sagittalebene der Läsion oder der relevanten Befunde wurden zusätzlich zur Videoaufzeichnung im Bild festgehalten und auf Thermopapier ausgedruckt.

### 3.1.4. Biopatientnahme

#### Technische Ausstattung

Die Biopsieentnahme wurde mit der „Biopsienadel 18 – G x 3“ “ der Firma „Dispomed Witt oHG“ zur Entnahme von Gewebeproben durchgeführt. Das Gerät besteht aus einer Hohlneedle, in der sich ein verschiebbares Stilet befindet, und einem Griff. Die Biopsienadel hat eine Eindringtiefe von 22 mm. Die Hohlneedle hat eine Länge von 9 cm und einen Außendurchmesser von 1 mm. Die Spitze des Stiletts weist eine 20 mm lange Halbprofilaussparung auf, auf der die Gewebeprobe zu liegen kommt.

**Abb.7: Biopsienadel der Firma „Dispomed Witt oHG“**



**Abb.8: Halbprofilaussparung der Biopsienadel**

Bei Betätigung des Biopsiegerätes dringt zunächst das Stilet durch die Haut in das Gewebe ein. Dann wird der Hohlneedelschaft verzögert über das Stilet geschoben. Dadurch wird ein Teil des Gewebes abgeschoren und in der Aussparung des Stiletts befindet sich daraufhin ein längliches Biopatient.

## **Durchführung der Biopsieentnahme am Pferd**

Im Anschluss an die sonographische Untersuchung wurde jedem Pferd aus dem Bereich der Läsion eine Biopsie entnommen. Dazu wurde vorhandenes Ultraschallgel sorgfältig mit alkoholischer Desinfektionslösung entfernt. Die Biopsielokalisationsstelle wurde chirurgisch vorbereitet und ein Depot von 2 ml des Lokalanästhetikums „Minocain 2 %®“ mit dem Wirkstoff Procainhydrochlorid im Bereich der Entnahmestelle unter die Haut gesetzt. Nach einer ausreichenden Einwirkzeit der Lokalanästhesie erfasste eine Hilfsperson das entsprechende Bein und hob es zur Fixation der Gliedmaße auf. In wenigen Fällen war für die Entnahme eine zusätzliche Ruhigstellung des Patienten durch Fixation mit einer Oberlippenbremse notwendig.

Die Punktionsstelle wurde unter sterilen Bedingungen per Palpation lokalisiert. Die Haut über der Lokalisation wurde zwischen Daumen und Zeigefinger gespannt. Die Nadelspitze wurde über der zu biopsierenden Zone auf die Haut aufgesetzt und die Haut durchstoßen. Die Biopsienadel wurde weiter in das Gewebe des M.interosseus vorgeschoben. Anschließend wurde die Hohladel über das Stilet geschoben und die komplette Biopsienadel herausgezogen. Nach der Biopsie wurde das Stilet aus dem Gerät vorgeschoben, so dass das Biopat in der Aussparung frei lag. Das Biopat wurde nun auf Vollständigkeit überprüft und in ein nummeriertes „Eppendorf-Röhrchen“ überführt. In das „Eppendorf-Röhrchen“ wurde zuvor 1 ml Medium pipettiert. Bei dem Medium handelte es sich um ein Elektronenmikroskop-Medium, in dem die Gewebeprobe fixiert wurde. So wurden die Biopate gesammelt und für die weitere elektronenmikroskopische Untersuchung im Rahmen einer fortführenden Dissertation aufbewahrt.

## **Nachversorgung der Biopsiestelle**

Die Stichöffnung wurde mit einem Iod-Zehenpolsterverband abgedeckt. Dieser Schutzverband wurde nach 48 Stunden von den Patientenbesitzern entfernt.

### **3.1.5 Applikation der Behandlungssubstanzen**

Die Pferdegruppe wurde randomisiert und auf diese Weise in 3 Gruppen à 10 Pferden aufgeteilt. Die Behandlungsgruppen bestanden aus den Gruppen A, B und C.

#### **Placebo**

Die Pferde der Gruppe A dienten als Kontrollgruppe. Als Placebo wurde hier das Stammzellmedium in den Fesselträger appliziert.

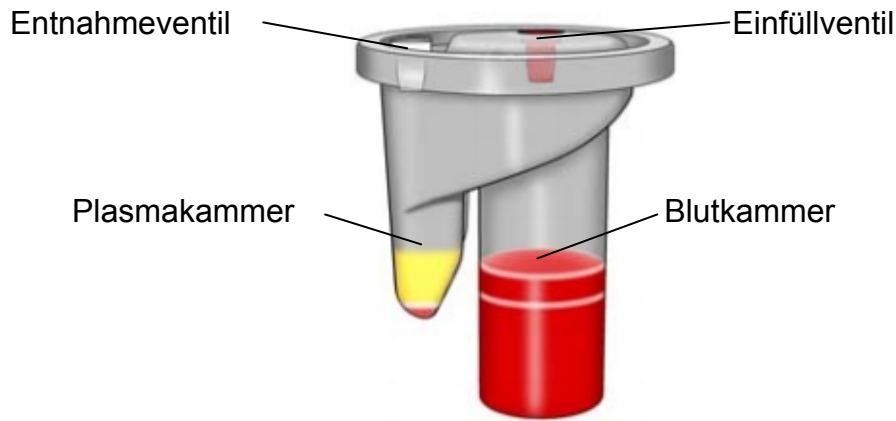
Bei dem Stammzellmedium handelte es sich um ein „Dulbecco’s Modified Eagle Medium“ (DMEM). Von diesem waren bereits jeweils 2 ml in einem Falconröhrchen vorgelegt. Diese wurden im Kühlschrank bei einer Temperatur von 8°C aufbewahrt.

Nach der Blutentnahme von 18 ml Blut in einer Spritze mit 2 ml Gerinnungshemmer wurden dem Stammzellmedium ein paar Tropfen Vollblut zugegeben. Dies diente dazu, die drei Substanzen optisch identisch erscheinen zu lassen, damit die Pferdebesitzer im Rahmen der Blindstudie die verabreichten Substanzen nicht unterscheiden konnten. Anschließend wurde das Gemisch in einer sterilen Spritze aufgezogen.

Nach der Biopotentnahme wurden unter sterilen Bedingungen insgesamt 2 ml in die Läsion in den Fesselträger injiziert und ein Schutzverband angelegt.

#### **Platelet Rich Plasma**

Die Pferde der Gruppe B wurden mit Platelet Rich Plasma (PRP) behandelt. Dabei handelt es sich um eine Konzentration von Thrombozytenaggregaten mit weiteren Komponenten, wie Wachstumsfaktoren und Zytokinen. Zur Herstellung von autologem Thrombozytenkonzentrat aus dem entnommenen Pferdeblut wurde ein von der Firma „Harvest Technologies®“ entwickeltes Set „SmartPReP2® APC-20+ Procedure Pack“ zum Einmalgebrauch verwendet. Das Set beinhaltet alle notwendigen Materialien. Eine Art Plastikbecher mit einer Einwegvorrichtung dient zur Herstellung von Thrombozytenkonzentrat. Dieser ist in 2 Kammern, eine Blut- und eine Plasmakammer, unterteilt und hat ein Fassungsvermögen von 20ml. Die zugehörigen Einfüll- und Entnahmeventile befinden sich auf der Oberseite des Bechers.



**Abb.9: Plastikbecher zur Herstellung von autologem Thrombozytenkonzentrat aus dem entnommenen Pferdeblut von der Firma „Harvest Technologies®“ (modifiziert nach „Harvest Technologies®“)**

Weiterhin enthält das Set eine 20 ml Spritze zur Abnahme des Vollblutes, eine 3ml Spritze zum Aufziehen des Antikoagulans, ein Fläschchen ACD-A Antikoagulans, eine gerade Plastikkanüle zur Übertragung des Blutes, eine 20 ml Spritze inklusive Kanüle zum Exprimieren des Überstandes und eine 10 ml Spritze inklusive Kanüle zur Aufnahme des fertigen Thrombozytenkonzentrates mit einer zusätzlichen 10ml Ersatzspritze. Zur Anwendung des SmartPReP®2 APC-20+ Procedure Pack wurde die ebenfalls von der Firma „Harvest®“ vertriebene Zentrifuge benutzt. Das System besteht aus einer Zentrifuge und einem Rotor für 2 Schwenkbecher mit speziell konzipierten Einsätzen.

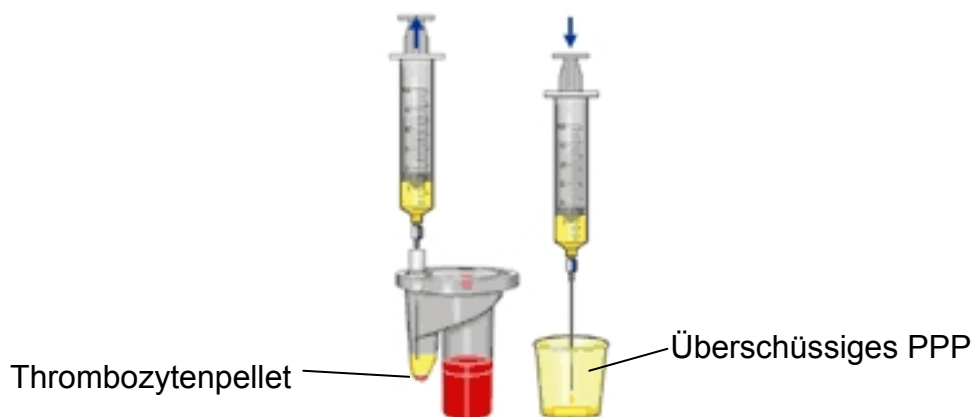


**Abb.10: Zentrifuge der Firma „Harvest Technologies®“ zur Herstellung des autologen Thrombozytenkonzentrates**

(modifiziert nach „Harvest Technologies®“)

Dem Pferd wurden 18 ml Vollblut mit der dafür vorgesehenen Spritze entnommen, in der zuvor 2 ml Antikoagulanzen vorgelegt wurden. Anschließend wurde eine gerade Kanüle auf die Spritze gesetzt und der Inhalt in die Blutkammer des Plastikbechers überführt. Dieser wurde in die Zentrifuge platziert und das Gegengewicht eingesetzt. Es erfolgte ein Zentrifugationsvorgang von 14 Minuten, der automatisiert zweistufig durchgeführt wird. Danach wurde der Plastikbecher vorsichtig entnommen. Die Plasmakammer des Doppelbehälters enthält nach dieser speziellen Zentrifugation oberhalb einer dünnen Schicht Erythrozyten das Thrombozytenpellet und das gelbliche thrombozytenarme Plasma (Platelet Poor Plasma = PPP). Diese Bestandteile sind in Schichten angeordnet, die gut erkennbar und voneinander abgrenzbar sind. Der sogenannte Buffy-Coat bildet die Grenzschicht zwischen dem gelblichen Blutplasma und der roten Schicht, dem Thrombozytenpellet und einem geringen Anteil Erythrozyten, die sich auf dem Boden der Kammer abgesetzt haben. Der Buffy-Coat besteht hauptsächlich aus Leukozyten. Die Blutkammer des Behälters enthält den größten Teil der Erythrozyten.

Das überschüssige PPP, das nicht für die Resuspension des Thrombozytenpellet erforderlich ist, wurde mit der nächsten Spritze aspiriert und verworfen. Das verbliebene Volumen von 2 ml wurde mit der dafür vorgesehenen Spritze aufgezogen und behutsam wieder in die Plasmakammer zurück injiziert, um die verschiedenen Bestandteile zu vermischen.



**Abb.11: Resuspension des Thrombozytenpellet mit 2ml PPP**

(modifiziert nach „Harvest Technologies®“)



Dieser Vorgang wurde 2-3 mal wiederholt bis alle Thrombozyten sichtbar resuspendiert waren und keine Anzeichen mehr einer Thrombozytenaggregation bestanden. Anschließend wurde der komplette Inhalt langsam in die Spritze aufgezogen.

In dem so gewonnenen PRP liegt laut Herstellerangaben eine Thrombozytenkonzentration von  $1.083.000 \pm 233.000 / \mu\text{l}$  vor. Dies entspricht einer Konzentrationsfähigkeit von  $65 \pm 9 \%$ .

Das PRP wurde dann unter sterilen Bedingungen in die Läsionen in den Fesselträger injiziert und ein Schutzverband angelegt.

### **Equine MSC**

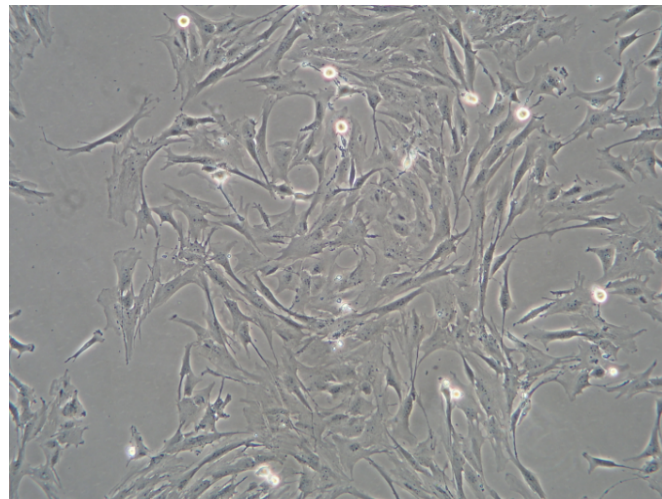
Zur Behandlung der Pferde der Gruppe C wurden adulte, allogene MSC verwendet. Diese wurden aus einem Sternumaspirat eines gesunden jungen Pferdes mit dem Einverständnis der Besitzer gewonnen. Im Rahmen einer Routineoperation, in der eine Kryptorchiden-Kastration durchgeführt wurde, wurde dem sonst völlig gesunden, 2 Jahre alten Pferd, Knochenmark aus dem Brustbein entnommen.

Das Pferd befand sich aufgrund der Operation bereits in einer Vollnarkose und war in Rückenlage positioniert. Die Operationsvorbereitung des Sternums erfolgte durch Rasur, Reinigung und Desinfektion. Zur Knochenmarkentnahme wurde eine Knochenmarksbiopsienadel der Firma „Harvest®“ verwendet. Die Knochenmarkentnahme erfolgte aus der Medianen des Brustbeins, im Bereich der Vorderbeine. Die Punktionskanüle wurde senkrecht zum Knochen unter drehenden Bewegungen in den Knochen vorgeschoben und das Knochenmarkssubstrat mit einer Spritze aspiriert. Vorher wurde die Spritze in einer Dosierung von 100U/ml mit Heparin versetzt. Das frisch gewonnene Knochenmark wurde bei Raumtemperatur in das Labor der „Klinik und Poliklinik für Knochenmarks- und Stammzelltransplantation“ (KMT) in das Universitätsklinikum Eppendorf (UKE) nach Hamburg gebracht.

Im Labor des KMT im UKE Hamburg wurde das equine Knochenmark im Vorfeld weiter verarbeitet und über mehrere Stufen passagiert. Hierzu wurden 300 $\mu\text{l}$  Knochenmark in einer T75-Zellkulturflasche mit 15ml Medium, 2mmol Glutamin und 10% vorgetestetem Kälberserum (Fetal Calf Serum = FCS) versetzt. Bei dem Medium handelte es sich um ein „Dulbecco’s Modified Eagle Medium“, kurz DMEM.

Dies ist ein standardisiertes Nährmedium für Zellkulturen. Im Weiteren wurde 2x pro Woche ein Mediumwechsel durchgeführt. Die adhärenenten Zellen wuchsen bis zu einer Konfluenz von 80-90 % aus. Anschließend wurden sie abgelöst und gezählt. Dies entsprach der Passagestufe p0.

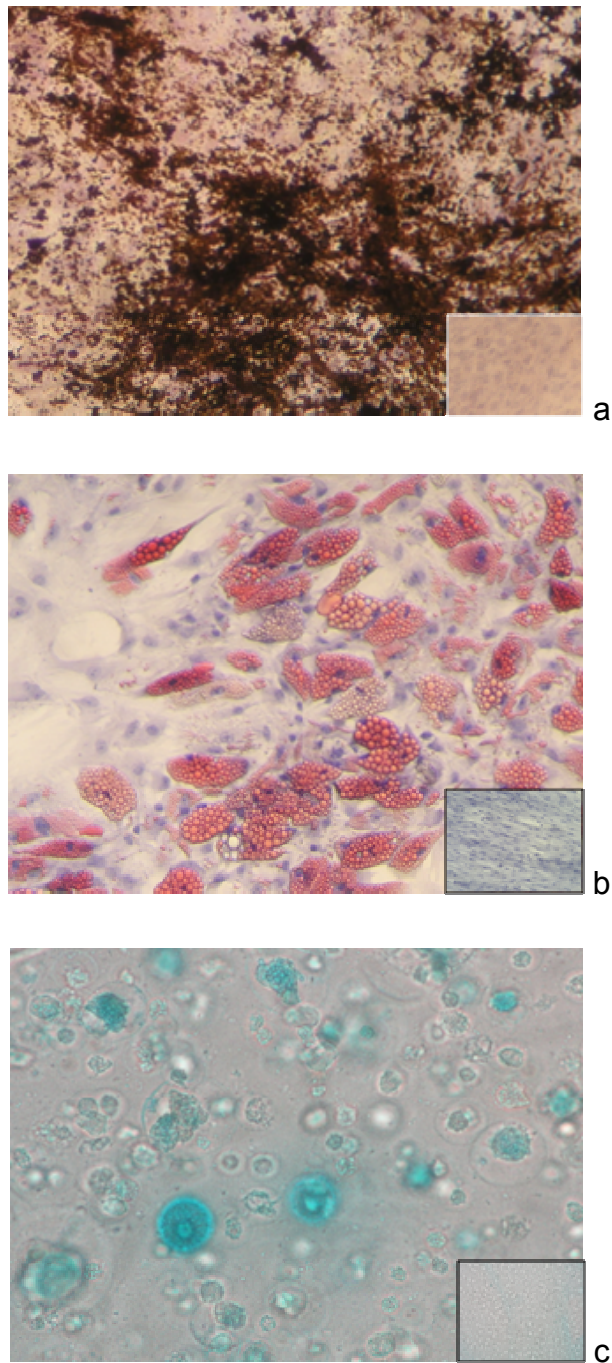
Die Zellen wurden mit 0,05 % Trypsin von ihrer Oberfläche des Kulturgefäßes abgelöst und 100 Zellen / cm<sup>2</sup> für die Passagestufe p1 neu ausgesät.



**Abb.12: Morphologie der MSC des Spenderpferdes**

Gezeigt ist die fibroblastoide Morphologie von equinen MSCs in der Passage 1 der in vitro-Expansion.

Die Zellen der Passagestufe p2 wurden in flüssigem Stickstoff bei -196° C gelagert und ein Aliquot wurde der Charakterisierung auf Phänotyp und Differenzierungspotential unterzogen. Die Bestimmung des Phänotyps der generierten MSC fand mit Hilfe der Durchflusszytometrie statt. Der überwiegende Teil der Zellpopulation zeigte eine hohe Positivität für den Histokompatibilitätskomplex I (MHC I = major histocompatibility complex I), CD90 sowie CD105 und Negativität für die hämatopoetischen Marker CD45 und CD14. Dies sind die Kriterien, die an eine reine MSC-Population angelegt werden (Dominici et al. 2006).



### Abb.13: Differenzierungspotential der equinen MSC

Die Zellen wurden auf ihr Potential in osteogene (a), adipogene (b) und chondrogene (c) Differenzierung durch Induktion in die jeweilige Richtung und Anfärbung untersucht (siehe Lange et al. 2007). Die osteogene Differenzierung wurde durch Anfärbung von Kalziumpräzipitaten mittels Silbernitrat, die adipogene durch Anfärbung der Fetttröpfchen mit Sudanrot und die chondrogene durch Anfärbung von Glucosaminoglykanen (Proteoglykane) mit Alzianblau verifiziert. Die Inserts zeigen die nicht-induzierten Kontrollkulturen ohne die jeweilige Differenzierung.

Bei Bedarf wurden die kryokonservierten MSC 4-5 Tage vor der anstehenden Behandlung aufgetaut. Dafür wurde das Kryoröhrchen aus dem flüssigen Stickstoff entnommen und in einem Wasserbad bei 37°C innerhalb einer Minute aufgetaut. Die Zellsuspension wurde in ein Falconröhrchen mit 10 ml Medium überführt. Dieses wurde anschließend für 5 Minuten bei 400g zentrifugiert. Der Medienüberstand wurde abgesaugt und das entstandene Zellpellet mit 10ml Kultivierungsmedium resuspendiert. Anschließend wurden die 10ml Zellsuspension auf 4 T75-Zellkulturflaschen verteilt. Die Flaschen wurden in einem Brutschrank bei 37°C und einem CO<sub>2</sub>-Gehalt von 5% inkubiert.

Nach 2 Tagen wurde bei jeder Flasche ein Medienwechsel durchgeführt, um die Zellen mit neuen Nährstoffen zu versorgen und die Stoffwechselprodukte zu beseitigen. Dazu wurde an einer sterilen Werkbank unter einer Laminar-Airflow-Decke das alte Medium mit einer Pasteurpipette abgesaugt. Nach dem Absaugen wurde sofort behutsam frisches Medium in die Kulturflasche eingefüllt.

Nach weiteren 2 Tagen wurden die MSC geerntet. Hierzu wurde zuerst das Medium mit einer Pasteurpipette unter einer Laminar-Airflow-Decke unter sterilen Bedingungen abgesaugt. Danach wurden die Flaschen mit je 10ml steriler PBS-Puffer-Lösung gewaschen und die Pufferlösung anschließend wieder abgesaugt. Es wurden 2ml Trypsin auf die Zellen gegeben und 2-5 Minuten einwirken gelassen, um die Zellen von ihrer Unterlage abzulösen. In der Folge wurden jeweils 3ml Medium pro Flasche hinzugegeben und die Zellen darin resuspendiert. Der Inhalt der Zellkulturflaschen wurde in ein Falconröhrchen überführt. Diese wurden 5 Minuten bei 400g zentrifugiert. Nach der Zentrifugation wurde das Medium abgesaugt. Im Röhrchen verblieb ein deutlich erkennbares Zellpellet. Darauf wurden 10 ml DMEM ohne Zusätze gegeben und das Zellpellet resuspendiert. Die Anzahl der Zellen wurde nun mit Hilfe einer Neubauer-Zählkammer ermittelt. Dazu wurde eine Probe im Verhältnis von 1:10 mit Trypanblau verdünnt, auf eine Neubauer-Zählkammer aufpipettiert und 4 Großquadrate unter dem Lichtmikroskop ausgezählt. So wurde die Anzahl der Zellen pro ml ermittelt. Der Zellsuspension wurde anschließend ein berechnetes Volumen an Medium zugefügt, so dass umgerechnet in 2 ml Volumen 10 Millionen Zellen enthalten sind. Von dieser Lösung wurden 2 ml in einer sterilen Spritze aufgezogen. Diese wurde in einer eisgekühlten Transportbox zur Praxis transportiert. Dort wurde dem zu behandelnden Pferd der Verum-Gruppe C, unter

Beachtung der sterilen Maßnahmen, der Inhalt der Spritze in die Läsion in den Fesselträger injiziert und anschließend ein Schutzverband angelegt.

### **3.1.6 Erstellung eines Bewegungsplanes**

Für jedes Pferd wurde ein Bewegungsplan (siehe Anhang) entsprechend dem Grad und dem Alter der Verletzung erstellt. Dieses Rehabilitations-Protokoll (modifiziert nach Gillis 1997) wurde den Pferdebesitzern in ausgedruckter Form mitgegeben. Die Pferdebesitzer wurden angewiesen, ihre Pferde dem Plan entsprechend zu bewegen.

### **3.1.7 Hufbeschlags – Korrektur**

Darüber hinaus fand bei Bedarf eine individuelle Beratung hinsichtlich der Optimierung des Hufbeschlages statt.

### **3.1.8 Kontrolluntersuchung der Probanden**

Die Pferde wurden zweimal im Abstand von 6 Wochen zur Nachkontrolle vorgestellt. Im Rahmen dieser Kontrolluntersuchungen wurden die Pferde standardisiert klinisch und ultrasonographisch nach dem oben beschriebenen Schema untersucht. Es wurde bei jeder Untersuchung eine Biopsie aus dem entsprechenden Bereich entnommen und wie oben dargestellt für die weiteren Untersuchungen aufbewahrt.

### **3.1.9 Fragebogen**

Da der Heilungsprozess und die Trainingsmaßnahmen nach 3 Monaten nicht abgeschlossen sind, wurde ein Fragebogen an die Patientenbesitzer verschickt. Die Evaluation des Heilungsverlaufes mittels Fragebogen fand 6 Monate nach der ersten Untersuchung statt. Die Bögen wurden auf elektronischem Weg oder auf dem Postweg an die Pferdebesitzer versandt. Auf dem gleichen Wege wurden die ausgefüllten Fragebögen zurückgeschickt. Der Fragebogen bestand aus insgesamt 11 Fragen, mit deren Hilfe der Verlauf des Heilungsprozesses erörtert und mögliche

aufgetretene Rezidive ermittelt werden sollten. Der vollständige Fragebogen ist im Anhang einzusehen.

### 3.1.10 Statistische Methodik

Eine Einführung in die Anwendung der statistischen Software sowie die statistische Beratung fanden im „Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie“ am UKE in Hamburg statt.

Die statistischen Auswertungen wurden mit Hilfe von SPSS für Windows, Version 18.0 (SPSS Inc., U.S.A.) durchgeführt.

Unterschieden wird im Rahmen dieser Auswertung nach nominalskalierten, rangskalierten und kardinalskalierten Variablen.

Zu den nominalskalierten Variablen zählen u.a. das Geschlecht der Patienten, der Einsatzschwerpunkt der Pferde, die betroffene Gliedmaße, eine vorhandene Fehlstellung und die Lokalisation der Läsion. Dabei sind die Untersuchungspunkte in Merkmalsklassen geordnet, die keine objektive Reihenfolge darstellen.

Bei den rangskalierten Variablen sind die Untersuchungsparameter nach einem objektiven Merkmal geordnet. Hierzu gehören die Schwellung der betroffenen Gliedmaße, der Lahmheitsgrad und der Ultraschall-Score.

Zu den kardinalskalierten Werten zählen das Alter und das Gewicht der Pferde sowie die Erkrankungsdauer.

Die Darstellung der kontinuierlichen Variablen erfolgte als Mittelwerte, während als Streumaße die Standardabweichungen gewählt wurden.

Die kontinuierlichen Variablen wurden mittels des *Shapiro-Wilk-Tests* hinsichtlich ihrer Normalverteilung überprüft. Während einige der getesteten Variablen keine Normalverteilung aufwiesen (Shapiro-Wilk-Test:  $p < 0,05$ ), konnte für andere Variablen eine Normalverteilung berechnet werden (Shapiro-Wilk-Test:  $p \geq 0,05$ ). Bei den Vergleichen der Stichproben wurden daher Tests für normalverteilte Stichproben und nichtparametrische Tests für nicht normalverteilte Stichproben herangezogen.

Beim Vergleich von mehr als 2 unabhängigen, nicht normalverteilten Stichproben wurde der *H-Test nach Kruskal und Wallis* eingesetzt, während beim Vergleich von mehr als 2 unabhängigen, normalverteilten Stichproben die *einfaktorielle ANOVA* Anwendung fand.

Die kategorisierten Daten dagegen wurden mit Hilfe des *Chi-Quadrat-Tests*, bzw. des *exakten Tests nach Fisher* ausgewertet.

Bei allen durchgeführten Tests erfolgte eine zweiseitige Signifikanzüberprüfung, wobei für alle statistischen Tests ein p-Wert  $< 0,05$  als statistisch signifikant angenommen wurde.

In den grafischen Darstellungen, die ebenfalls mit SPSS erstellt wurden, wurden zur Veranschaulichung der Mittelwerte bei normalverteilten Stichproben Fehlerbalken verwendet, wobei als Streumaß aufgrund der großen Streubreite die Standardfehler aufgeführt wurden. Zur Veranschaulichung der Mediane und Quartilsabstände bei nicht normalverteilten Stichproben wurden Boxplots verwendet. Während in den Boxen der Median sowie die 25.-75. Perzentile aufgetragen sind, entsprechen die T-Balken dem kleinsten und größten Wert, sofern diese keine Ausreißer bzw. Extremwerte sind. Die Ausreißer sind dabei Werte, die zwischen  $1\frac{1}{2}$  - 3 Boxlängen außerhalb der Box liegen und sind in den Grafiken als Kreise dargestellt, während Extremwerte, die mehr als 3 Boxlängen außerhalb der Box gemessen wurden, als kleines Kreuz aufgetragen sind. Die kategorisierten Daten wurden grafisch mit Hilfe von einfachen und gruppierten Balkendiagrammen dargestellt.

## 4. Ergebnisse

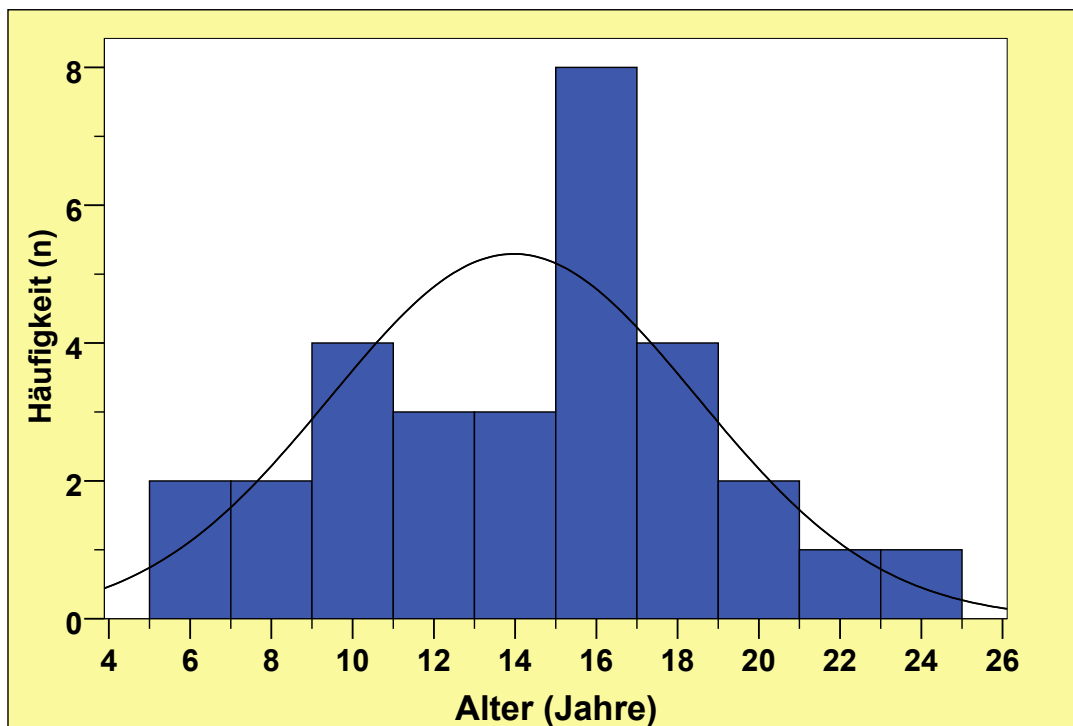
### 4.1 Patientengut

Insgesamt wurde eine Pferdegruppe von 30 Pferden ( $n = 30$ ) untersucht.

**Tab.3: Behandlungsgruppen**

	Häufigkeit	Prozent
Gruppe A = Placebo	10	33,3
Gruppe B = PRP	10	33,3
Gruppe C = mSC	10	33,3
Gesamt	30	100,0

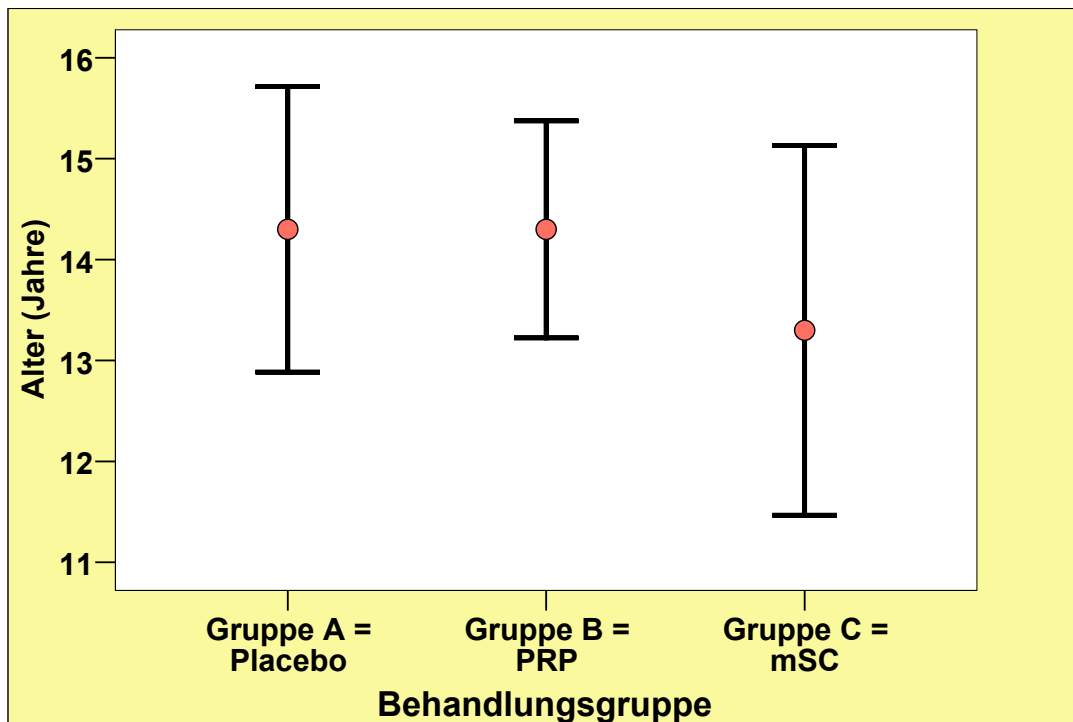
Die Behandlungsgruppen bestanden aus den Gruppen A, B und C und beinhalteten jeweils 10 Pferde mit einer vordiagnostizierten Desmitis des Musculus interosseus.



**Abb.14: Altersverteilung im Gesamtkollektiv**



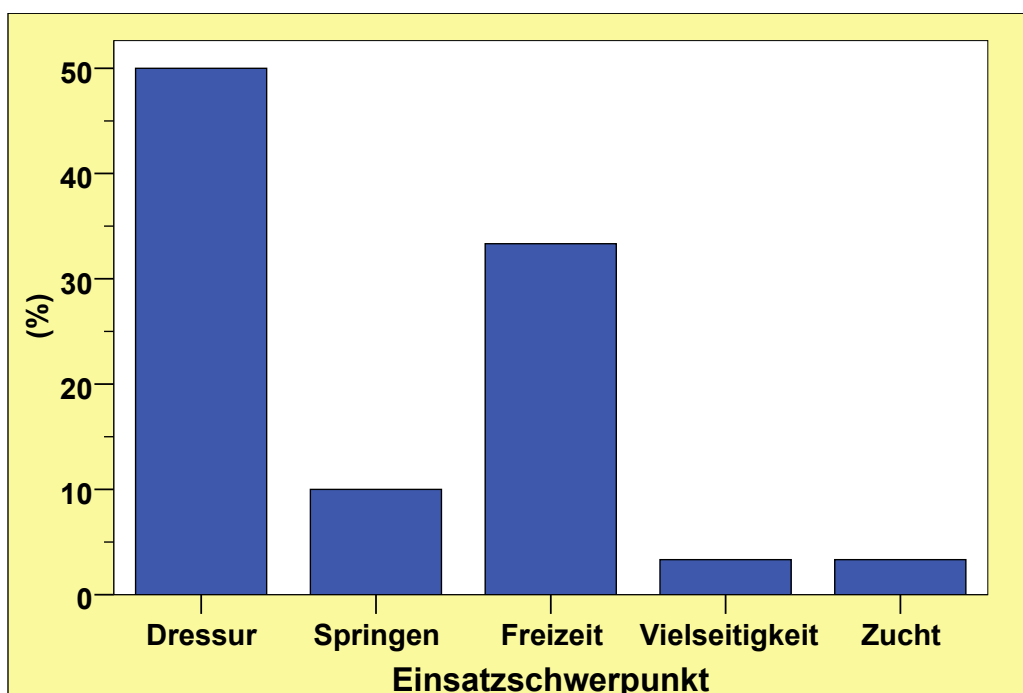
Die Tiere mit einem Durchschnittsalter von 13,97 Jahren gehörten den Rassen deutsches Warmblut (n = 28) und Andalusier (n = 2) an.



**Abb.15: Altersverteilung in den 3 Behandlungsgruppen**

Die Pferde in den Gruppen A und B waren im Mittel 14,3 Jahre alt. In Gruppe C betrug das mittlere Alter der Pferde 13,3 Jahre.

Es besteht kein signifikanter Unterschied bezüglich der Altersverteilung zwischen den Behandlungsgruppen.



**Abb.16: Prozentuale Verteilung der Pferde hinsichtlich ihrer Nutzung**

Von den 30 Patienten wurden 50% als Reitpferde im Dressurbereich und 10% im Springen genutzt. Einige Pferde wurden hierfür auch im Turniersport eingesetzt. 33,3% wurden als Freizeitpferd geritten, 3,3 % in der Vielseitigkeit und 3,3, % als Zuchtpferd eingesetzt.

**Tab.4: Geschlechtsverteilung in den 3 Gruppen und im Gesamtkollektiv**

		Behandlungsgruppe			
Geschlecht		Gruppe A = Placebo	Gruppe B = PRP	Gruppe C = mSC	Gesamt
Stute	Anzahl	4	1	4	9
	% von Behandlungsgruppe	40,0%	10,0%	40,0%	30,0%
Wallach	Anzahl	6	9	6	21
	% von Behandlungsgruppe	60,0%	90,0%	60,0%	70,0%
Gesamt	Anzahl	10	10	10	30
	% von Behandlungsgruppe	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Die Geschlechtsverteilung belief sich insgesamt auf 9 Stuten (30 %) und 21 Wallache (70 %).

**Tab.5: Gewichtsverteilung in kg in den 3 Gruppen und im Gesamtkollektiv**

Behandlungsgruppe	Mittelwert	Standard-abweichung	Median	Minimum	Maximum	N
Gruppe A = Placebo	570,00	31,623	570,00	520	600	10
Gruppe B = PRP	574,00	75,307	550,00	480	680	10
Gruppe C = mSC	575,00	55,628	590,00	450	660	10
Insgesamt	573,00	55,096	570,00	450	680	30

Der Mittelwert für das Gewicht liegt im Gesamtkollektiv bei 573 kg.

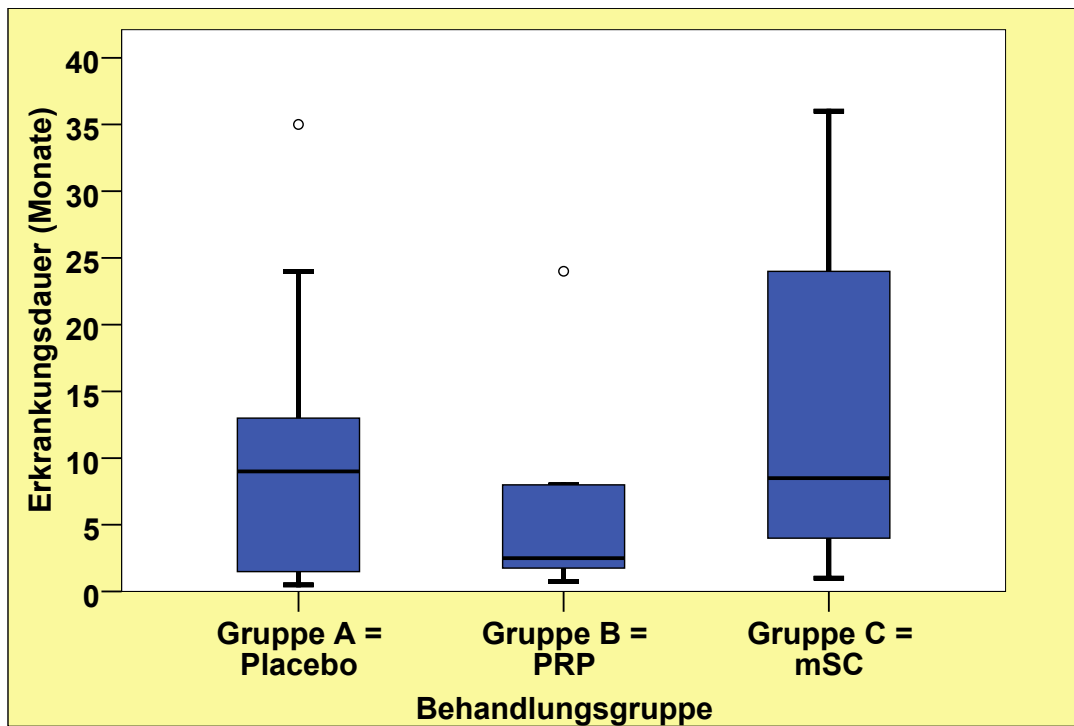
#### 4.2 Dauer der Erkrankung

Im Rahmen des Vorberichtes wurde die Erkrankungsdauer erfragt und dokumentiert.

**Tab.6: Erkrankungsdauer in den 3 Gruppen und im Gesamtkollektiv**

Behandlungsgruppe	Mittelwert	Standard-abweichung	Median	Minimum	Maximum	N
Gruppe A = Placebo	11,1111	11,61566	9,0000	,50	35,00	9
Gruppe B = PRP	18,2222	38,86263	2,5000	,75	120,00	9
Gruppe C = mSC	14,8000	14,00635	8,5000	1,00	36,00	10
Insgesamt	14,7143	23,69176	5,5000	,50	120,00	28

Im Gesamtkollektiv bestand eine Erkrankung des Fesselträgers im Median seit 5,5 Monaten.



**Abb.17: Vergleich der Erkrankungsdauer in den 3 Gruppen**

In der Behandlungsgruppe A litten die Pferde im Median seit 9 Monaten an einer solchen Erkrankung. Bei den Pferden in Gruppe B bestand eine Erkrankung im Median seit 2,5 Monaten und in Gruppe C seit 8,5 Monaten.

### 4.3 Häufigkeitsverteilung der betroffenen Gliedmaße

Innerhalb der Pferdegruppe war eine Erkrankung des Fesselträgers bei 9 Pferden (30 %) auf der Vorhand und bei 21 Pferden (70 %) auf der Hinterhand lokalisiert.

**Tab.7: Betroffene Gliedmaße in den 3 Gruppen und im Gesamtkollektiv**

Betroffene Gliedmaße		Behandlungsgruppe			Gesamt
		Gruppe A = Placebo	Gruppe B = PRP	Gruppe C = mSC	
vorne links	Anzahl	2	1	1	4
	% von betroffene Gliedmaße	50,0%	25,0%	25,0%	100,0%
vorne rechts	Anzahl	1	3	1	5
	% von betroffene Gliedmaße	20,0%	60,0%	20,0%	100,0%
hinten links	Anzahl	4	4	5	13
	% von betroffene Gliedmaße	30,8%	30,8%	38,5%	100,0%
hinten rechts	Anzahl	3	2	3	8
	% von betroffene Gliedmaße	37,5%	25,0%	37,5%	100,0%
Gesamt	Anzahl	10	10	10	30
	% von Behandlungsgruppe	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Dabei waren an den Vordergliedmaßen bei 4 Pferden (13,3%) das linke Bein und bei 5 Pferden (16,7%) das rechte Vorderbein betroffen. An den Hintergliedmaßen lag bei 13 Pferden (43,3%) eine Erkrankung am linken und bei 8 Pferden (26,7%) am rechten Bein vor.

Aus den vorliegenden Daten ist kein Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer Fesselträgererkrankung und einer bestimmten Gliedmaße abzuleiten.

#### 4.4 Klinische Untersuchung

##### 4.4.1 Fehlstellungen der Gliedmaße

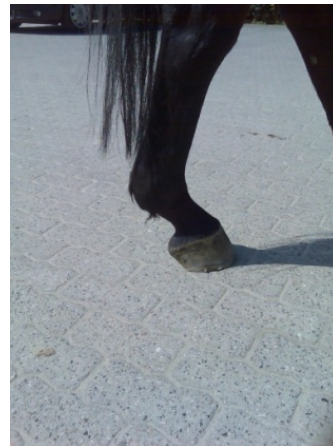
Bei der speziellen klinischen Untersuchung wurde eingehend die Stellung der Gliedmaßen sowie der Hufe betrachtet.

**Tab.8: Fehlstellung in den 3 Gruppen und im Gesamtkollektiv**

Fehlstellung		Behandlungsgruppe			Gesamt
		Gruppe A = Placebo	Gruppe B = PRP	Gruppe C = mSC	
nicht vorhanden	Anzahl	2	1	4	7
	% von Behandlungsgruppe	20,0%	10,0%	40,0%	23,3%
vorhanden	Anzahl	8	9	6	23
	% von Behandlungsgruppe	80,0%	90,0%	60,0%	76,7%
Gesamt	Anzahl	10	10	10	30
	% von Behandlungsgruppe	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Dabei war im Gesamtkollektiv bei 23 Pferden (76,7 %) eine Fehlstellung der Gliedmaße festzustellen.

Von diesen zeigten 11 Pferde (47,8%) eine vermehrte Durchtrittigkeit im Fesselgelenk.



**Abb.18: Hyperextension im Fesselgelenk bei einem 12-jährigen Holsteiner Wallach (links) und einer 22-jährigen Mecklenburger-Stute (rechts)**

9 Pferde (39,1 %) zeigten eine vermehrte Fußung auf die Außentrachte des Hufes bzw. führten die gesamte Gliedmaße nach außen. Außerdem fiel bei 2 Pferden (8,7%) eine gerade Winkelung im Sprunggelenk auf. Ein Pferd (4,3%) besaß an der betroffenen Gliedmaße einen Bockhuf.

#### 4.4.2 Schwellung

Bei der speziellen klinischen Untersuchung wurde zu Beginn sowie bei beiden Nachkontrollen auf eine Umfangsvermehrung und vermehrte Schwellung im Bereich des M. interosseus medius geachtet.

**Tab.9: Schwellung in den 3 Gruppen bei Eingangsuntersuchung (t1)**

		Behandlungsgruppe			Gesamt
Schwellung US1		Gruppe A = Placebo	Gruppe B = PRP	Gruppe C = mSC	
keine	Anzahl	2	2	1	5
	% von Behandlungsgruppe	20,0%	25,0%	10,0%	17,9%
leicht	Anzahl	4	2	6	12
	% von Behandlungsgruppe	40,0%	25,0%	60,0%	42,9%
mittel	Anzahl	0	0	1	1
	% von Behandlungsgruppe	,0%	,0%	10,0%	3,6%
stark	Anzahl	4	3	2	9
	% von Behandlungsgruppe	40,0%	37,5%	20,0%	32,1%
sehr stark	Anzahl	0	1	0	1
	% von Behandlungsgruppe	,0%	12,5%	,0%	3,6%
Gesamt	Anzahl	10	8	10	28
	% von Behandlungsgruppe	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%



Vor Behandlungsbeginn zeigten 3,6 % der Pferde eine sehr starke Schwellung, 32,1% des Gesamtkollektivs hatten eine starke, 3,6% eine mittlere und 42,9% eine leichte Schwellung. Bei 17,9% der Pferde war die Gliedmaße nicht umfangsvermehrt. Es fiel auf, dass im Bereich der Fesselträgerschenkel vor allem mittlere bis sehr starke Schwellungen auftraten. Im Ursprungsbereich des Fesselträgers waren hauptsächlich mittlere bis keine Umfangsvermehrungen zu beobachten. Die vorhandenen Umfangsvermehrungen waren bei der Palpation hart und derb.

**Tab.10: Schwellung in den 3 Gruppen bei der 1. Nachkontrolle (t2)**

		Behandlungsgruppe			Gesamt
Schwellung US 2		Gruppe A = Placebo	Gruppe B = PRP	Gruppe C = mSC	Gruppe A = Placebo
keine	Anzahl	5	2	4	11
	% von Behandlungsgruppe	50,0%	25,0%	40,0%	39,3%
leicht	Anzahl	3	4	5	12
	% von Behandlungsgruppe	30,0%	50,0%	50,0%	42,9%
mittel	Anzahl	0	0	1	1
	% von Behandlungsgruppe	,0%	,0%	10,0%	3,6%
stark	Anzahl	2	1	0	3
	% von Behandlungsgruppe	20,0%	12,5%	,0%	10,7%
sehr stark	Anzahl	0	1	0	1
	% von Behandlungsgruppe	,0%	12,5%	,0%	3,6%
Gesamt	Anzahl	10	8	10	28
	% von Behandlungsgruppe	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Bei der ersten Nachuntersuchung nach 6 Wochen war eine vorhandene Schwellung in allen Gruppen zurückgegangen.

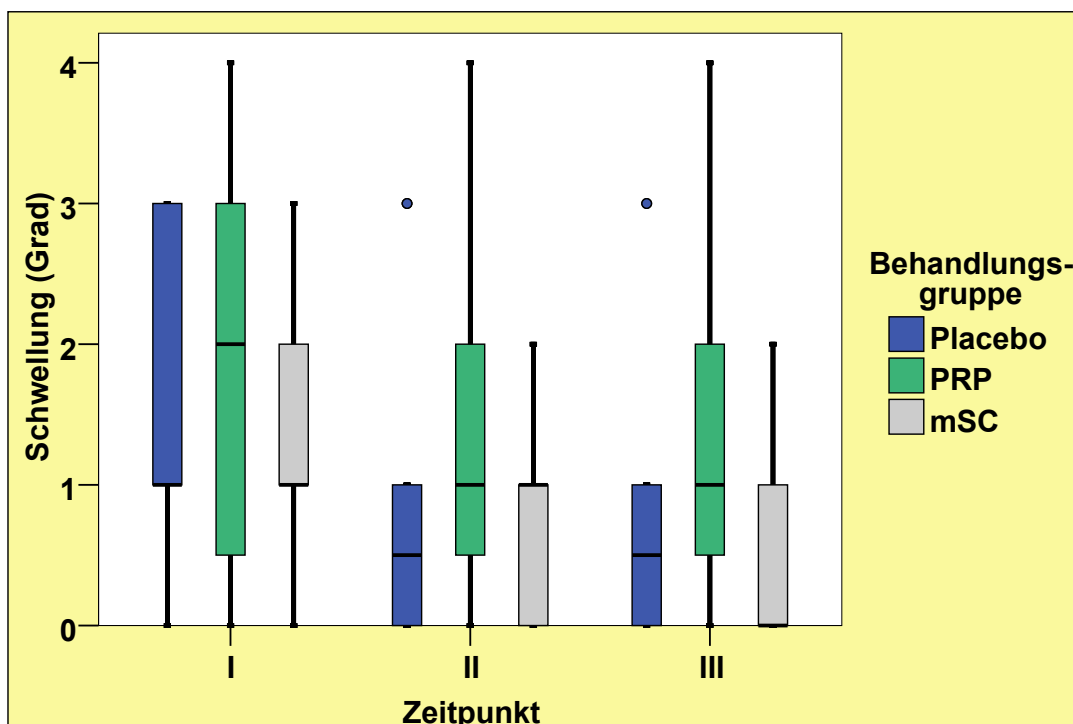
In Gruppe A gingen 2 starke auf eine leichte Schwellung zurück. 3 leichte Schwellungen waren nach 6 Wochen nicht mehr vorhanden. 5 Schwellungen blieben unverändert. In Gruppe B waren die Schwellungen in 6 Fällen nach 6 Wochen unverändert. Bei 2 Pferden hat sich eine starke Schwellung bis auf eine leichte Umfangsvermehrung zurückgebildet. Nach 6 Wochen war bei 5 Pferden in Gruppe C eine unveränderte Schwellung zu beobachten. Bei 2 Pferden verbesserte sich die Schwellung von stark auf leicht. Außerdem waren 3 leichte Schwellungen nach 6 Wochen nicht mehr vorhanden.

**Tab.11: Schwellung in den 3 Gruppen bei der 2. Nachkontrolle (t3)**

		Behandlungsgruppe			Gesamt
Schwellung US 3		Gruppe A = Placebo	Gruppe B = PRP	Gruppe C = mSC	Gruppe A = Placebo
keine	Anzahl	5	2	6	13
	% von Behandlungsgruppe	50,0%	25,0%	60,0%	46,4%
leicht	Anzahl	3	4	3	10
	% von Behandlungsgruppe	30,0%	50,0%	30,0%	35,7%
mittel	Anzahl	0	0	1	1
	% von Behandlungsgruppe	,0%	,0%	10,0%	3,6%
stark	Anzahl	2	1	0	3
	% von Behandlungsgruppe	20,0%	12,5%	,0%	10,7%
sehr stark	Anzahl	0	1	0	1
	% von Behandlungsgruppe	,0%	12,5%	,0%	3,6%
Gesamt	Anzahl	10	8	10	28
	% von Behandlungsgruppe	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Bei der 2. Nachuntersuchung nach weiteren 6 Wochen waren in den Gruppen A und B keine Veränderungen im Vergleich zur letzten Untersuchung zu vermerken.

In der Gruppe C waren zwei leichte Schwellungen nicht mehr zu beobachten. Die Umfangsvermehrungen der anderen Pferde dieser Gruppe waren unverändert geblieben.



**Abb.19: Schwellung in den 3 Gruppen im zeitlichen Verlauf**

Die Abbildung 17 zeigt, dass das Schwellungsausmaß der Gliedmaßen im Verlaufe der Untersuchungsperiode von insgesamt 3 Monaten in allen Gruppen abgenommen hat. Eine Abnahme der Umfangsvermehrung ist vor allem innerhalb der ersten 6 Wochen zu verzeichnen. Hier verringert sich der Median in der Gruppe A von 1 auf 0,5 und in der Gruppe B von 2 auf 1. In Gruppe C ist eine Abnahme des Medians von 1 auf 0 in der Zeit zwischen der 2. und 3. Untersuchung zu verzeichnen. In Gruppe A und B verändert sich der Median in dieser Periode nicht.

**Tab.12: Schwellung in den 3 Gruppen bei Eingangsuntersuchung (t1)**

Behandlungsgruppe	Mittelwert	Standard- abweichung	Median	Minimum	Maximum	N
Gruppe A = Placebo	1,60	1,265	1,00	keine	stark	10
Gruppe B = PRP	1,88	1,553	2,00	keine	sehr stark	8
Gruppe C = mSC	1,40	,966	1,00	keine	stark	10
Insgesamt	1,61	1,227	1,00	keine	sehr stark	28

**Tab.13: Schwellung in den 3 Gruppen bei der 1. Nachkontrolle (t2)**

Behandlungsgruppe	Mittelwert	Standard- abweichung	Median	Minimum	Maximum	N
Gruppe A = Placebo	,90	1,197	,50	keine	stark	10
Gruppe B = PRP	1,38	1,408	1,00	keine	sehr stark	8
Gruppe C = mSC	,70	,675	1,00	keine	mittel	10
Insgesamt	,96	1,105	1,00	keine	sehr stark	28

**Tab.14: Schwellung in den 3 Gruppen bei der 2. Nachkontrolle (t3)**

Behandlungsgruppe	Mittelwert	Standard- abweichung	Median	Minimum	Maximum	N
Gruppe A = Placebo	,90	1,197	,50	keine	stark	10
Gruppe B = PRP	1,38	1,408	1,00	keine	sehr stark	8
Gruppe C = mSC	,50	,707	,00	keine	mittel	10
Insgesamt	,89	1,133	1,00	keine	sehr stark	28

**Tab.15: Kruskal – Wallis – Test (Gruppenvariable: Behandlungsgruppe)**

	Schwellung US 1	Schwellung US 2	Schwellung US 3
Chi-Quadrat	,346	1,203	2,428
df	2	2	2
Asymptotische Signifikanz	<b>,841</b>	<b>,548</b>	<b>,297</b>

In der Tabelle 15 sind die Ergebnisse des Kruskal – Wallis – Tests zum Vergleich der 3 Behandlungsgruppen hinsichtlich des Parameters *Schwellung* aufgeführt. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den 3 Behandlungsgruppen waren nicht nachzuweisen.

#### 4.4.3 Lahmheitsgrad

Im weiteren Verlauf der klinischen Untersuchung fand die Lahmheitsuntersuchung nach Adams Lahmheitsprotokoll (Stashak 1998) statt. Die Lahmheit wurde in Grade eingestuft und für jeden Untersuchungszeitpunkt dokumentiert.

**Tab.16: Lahmheitsgrad in den 3 Gruppen bei Eingangsuntersuchung (t1)**

		Behandlungsgruppe			
t1		Gruppe A = Placebo	Gruppe B = PRP	Gruppe C = mSC	Gesamt
keine Lahmheit	Anzahl	1	0	1	2
	% von Behandlungsgruppe	10,0%	,0%	10,0%	6,7%
undeutlich geringgradige LH	Anzahl	0	1	1	2
	% von Behandlungsgruppe	,0%	10,0%	10,0%	6,7%
deutlich geringgradige LH	Anzahl	5	8	5	18
	% von Behandlungsgruppe	50,0%	80,0%	50,0%	60,0%
mittelgradige LH	Anzahl	4	1	3	8
	% von Behandlungsgruppe	40,0%	10,0%	30,0%	26,7%
Gesamt	Anzahl	10	10	10	30
	% von Behandlungsgruppe	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Bei der Eingangsuntersuchung vor Behandlungsbeginn zeigten bis auf 2 Pferde alle Studienteilnehmer eine Lahmheit. Diese variierte von undeutlich geringgradig bis mittelgradig. Im Median lag in allen Gruppen insgesamt eine deutliche Lahmheit (Grad 2) vor.

Die Pferde zeigten eine gemischte Lahmheit. Des Weiteren konnte beobachtet werden, dass die Pferde auf weichem Untergrund eine deutlichere Lahmheit zeigten als auf hartem Boden. Bei Pferden mit einer Schenkelproblematik war eine vermehrte Stützbeinlahmheit zu erfassen. Hingegen präsentierten Pferde mit einer Problematik des Fesselträgerursprungs eine vermehrte Hangbeinlahmheit. Hier war deutlich die Vorfürhrphase der Gliedmaße verkürzt. Darüber hinaus waren diese Pferde auf gebogener Linie, auf der Hand, auf der das betroffene Bein außen ist, deutlicher lahm. Auch in engen Wendungen zeigten diese Pferde eine vermehrte Schmerzhaftigkeit.

**Tab.17: Lahmheitsgrad in den 3 Gruppen bei der 1. Nachkontrolle (t2)**

		Behandlungsgruppe			Gesamt
t2		Gruppe A = Placebo	Gruppe B = PRP	Gruppe C = mSC	
keine Lahmheit	Anzahl	6	1	4	11
	% von Behandlungsgruppe	60,0%	11,1%	40,0%	37,9%
undeutlich geringgradige LH	Anzahl	0	5	1	6
	% von Behandlungsgruppe	,0%	55,6%	10,0%	20,7%
deutlich geringgradige LH	Anzahl	3	3	5	11
	% von Behandlungsgruppe	30,0%	33,3%	50,0%	37,9%
mittelgradige LH	Anzahl	1	0	0	1
	% von Behandlungsgruppe	10,0%	,0%	,0%	3,4%
Gesamt	Anzahl	10	9	10	29
	% von Behandlungsgruppe	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Bei den Kontrolluntersuchungen 6 Wochen später waren 5 Pferde der Gruppe A frei von Lahmheit, die bei der Eingangsuntersuchung eine deutliche Lahmheit zeigten. 3 Pferde mit einer ursprünglich mittelgradigen Lahmheit waren bei der 1. Nachuntersuchung deutlich lahm. Bei zwei Pferden war die Lahmheit unverändert. Im Median liegt in dieser Gruppe zum Zeitpunkt t2 keine Lahmheit vor.

In Gruppe B zeigten 5 der Pferde mit einer deutlichen Lahmheit eine Verbesserung. Bei 4 Pferden war die Lahmheit unverändert. Bei einem Pferd war die Lahmheit auf der betroffenen Gliedmaße nicht beurteilbar, da dieses Pferd am Tag der Untersuchung ein Hufeisen verloren hatte. Bei der ersten Kontrolluntersuchung zeigte die Gruppe im Median eine undeutlich geringgradige Lahmheit.

Bei 5 Pferden der Gruppe C hatte sich in den 6 Wochen die bestehende Lahmheit um einen Grad verbessert. 2 Pferde mit einer zuvor deutlichen Lahmheit waren bei der Kontrolle lahmfrei. Bei den restlichen 3 Pferden war die Lahmheit unverändert. Hier lag bei der zweiten Untersuchung ein Median von 1,5 vor.

Zum Zeitpunkt der ersten Kontrolluntersuchung bestand, wie aus der folgenden Tabelle ersichtlich wird, zwischen den 3 Behandlungsgruppen ein statistisch signifikanter Unterschied.

**Tab.18: Chi – Quadrat – Test**

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	13,411	6	<b>,037</b>
Anzahl der gültigen Fälle	29		



Tab.19: Lahmheitsgrad in den 3 Gruppen bei der 2. Nachkontrolle (t3)

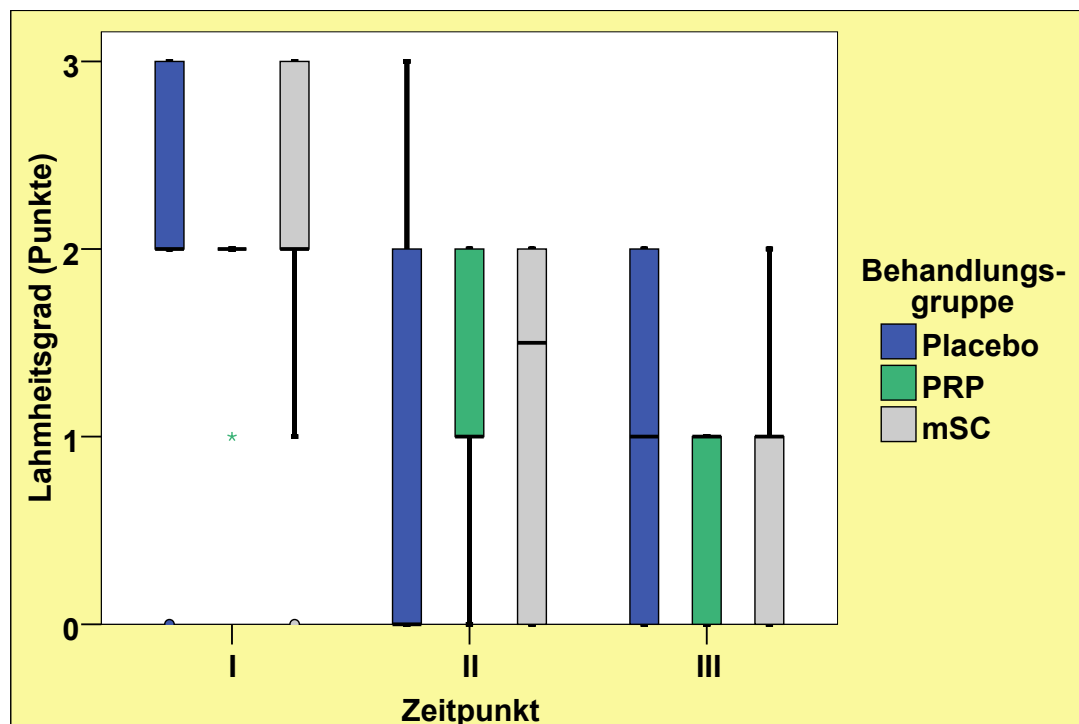
		Behandlungsgruppe			Gesamt
t3		Gruppe A = Placebo	Gruppe B = PRP	Gruppe C = mSC	
keine Lahmheit	Anzahl	4	3	4	11
	% von Behandlungsgruppe	44,4%	30,0%	40,0%	37,9%
undeutlich geringgradige LH	Anzahl	1	6	4	11
	% von Behandlungsgruppe	11,1%	60,0%	40,0%	37,9%
deutlich geringgradige LH	Anzahl	4	1	2	7
	% von Behandlungsgruppe	44,4%	10,0%	20,0%	24,1%
Gesamt	Anzahl	9	10	10	29
	% von Behandlungsgruppe	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Bei der 2. Kontrolluntersuchung waren 4 Pferde der Gruppe A lahmfrei. Bei 2 Pferden hatte sich die Lahmheit seit der letzten Untersuchung nicht verändert. Ein Pferd, das zuvor lahmfrei war, zeigte eine deutliche Lahmheit auf der betroffenen Gliedmaße. Bei einem weiteren Pferd war die Lahmheit auf der betroffenen Gliedmaße nicht beurteilbar, da das Pferd auf einem anderen Bein eine deutliche Lahmheit zeigte.

In der Gruppe B hatte sich bei 6 Pferden die Lahmheit seit der letzten Untersuchung um einen Grad verbessert. Bei 4 Pferden war die Lahmheit unverändert.

Bei 3 Pferden der Gruppe C, die zuvor eine deutliche Lahmheit zeigten, lag bei der 2. Nachkontrolle eine undeutlich geringgradige Lahmheit vor. Bei den anderen 7 Pferden dieser Gruppe war die Lahmheit unverändert.

In allen 3 Gruppen lag der Median bei der 2. Kontrolluntersuchung bei 1, das heißt im Median lag in allen Gruppen eine undeutlich geringgradige Lahmheit vor.



**Abb.20: Lahmheitsgrade in den 3 Gruppen im zeitlichen Verlauf**

Aus der oben dargestellten Grafik wird ersichtlich, dass sich die Lahmheit insgesamt in allen Gruppen verbessert hat. Dabei ist der Besserungsgrad in Gruppe A von der ersten zur zweiten Untersuchung am größten. Hier ist im Median eine Verbesserung von Grad 2 auf Grad 0 zu notieren. Auch in Gruppe B ist von der Eingangsuntersuchung zur ersten Kontrolle im zeitlichen Verlauf die deutlichere Besserung zu verzeichnen. In Gruppe C hingegen erfolgt eine Verbesserung in kontinuierlichen Stufen.

**Tab.20: Lahmheitsgrad in den 3 Gruppen bei Eingangsuntersuchung (t1)**

Behandlungsgruppe	Mittelwert	Standard- abweichung	Median	Minimum	Maximum	N
Gruppe A = Placebo	2,20	,919	2,00	keine Lahmheit	mittelgradige LH	10
Gruppe B = PRP	2,00	,471	2,00	undeutlich gering- gradige LH	mittelgradige LH	10
Gruppe C = mSC	2,00	,943	2,00	keine Lahmheit	mittelgradige LH	10
Insgesamt	2,07	,785	2,00	keine Lahmheit	mittelgradige LH	30

**Tab.21: Lahmheitsgrad in den 3 Gruppen bei der 1. Nachkontrolle (t2)**

Behandlungsgruppe	Mittelwert	Standard- abweichung	Median	Minimum	Maximum	N
Gruppe A = Placebo	,90	1,197	,00	keine Lahmheit	mittelgradige LH	10
Gruppe B = PRP	1,22	,667	1,00	keine Lahmheit	deutlich geringgradige LH	9
Gruppe C = mSC	1,10	,994	1,50	keine Lahmheit	deutlich geringgradige LH	10
Insgesamt	1,07	,961	1,00	keine Lahmheit	mittelgradige LH	29

Tab.22: Lahmheitsgrad in den 3 Gruppen bei der 2. Nachkontrolle (t3)

Behandlungsgruppe	Mittelwert	Standard- abweichung	Median	Minimum	Maximum	N
Gruppe A = Placebo	1,00	1,000	1,00	keine Lahmheit	deutlich geringgradige LH	9
Gruppe B = PRP	,80	,632	1,00	keine Lahmheit	deutlich geringgradige LH	10
Gruppe C = mSC	,80	,789	1,00	keine Lahmheit	deutlich geringgradige LH	10
Insgesamt	,86	,789	1,00	keine Lahmheit	deutlich geringgradige LH	29

Tab.23: Kruskal–Wallis–Test (Gruppenvariabel: Behandlungsgruppe)

	Lahmheits- grad bei Aufnahme	Lahmheits- grad NK I	Lahmheits- grad NK II
Asymptotische Signifikanz	<b>,555</b>	<b>,708</b>	<b>,880</b>

Die Tabelle 23 enthält das Ergebnis des *Kruskal–Wallis–Testes* im Vergleich der 3 Behandlungsgruppen hinsichtlich des Lahmheitsgrades.

Es besteht kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen einer Verbesserung des Lahmheitsgrades und der Behandlungsgruppe.

---

## 4.5 Sonographische Untersuchung

### 4.5.1 Lokalisation der Läsion

Die sonographische Untersuchung der distalen Gliedmaße diente der Lokalisation der Läsion. Diese wurde mit Hilfe der beschriebenen Zoneneinteilung im Protokoll dokumentiert.

25 Pferde zeigten Läsionen unterschiedlichen Grades in einem Bereich des M. interosseus medius. Hingegen gab es 5 Pferde mit kombinierten Veränderungen, das bedeutet mit Läsionen in mehreren Bereichen. Bei diesen Pferden wurde die Läsion des größten Ausmaßes mit einer der drei Methoden behandelt und in die statistische Auswertung aufgenommen.

Demnach ergab sich eine Verteilung der Läsionen auf die unterschiedlichen Bereiche des M. interosseus medius, wie in der folgenden Tabelle dargestellt.

Tab.24: Lokalisationen der Läsion in den 3 Gruppen

Lokalisation		Behandlungsgruppe			Gesamt
		Gruppe A = Placebo	Gruppe B = PRP	Gruppe C = mSC	
Ursprung	Anzahl	6	3	4	13
	% von Behandlungsgruppe	60,0%	30,0%	40,0%	43,3%
Body	Anzahl	0	0	1	1
	% von Behandlungsgruppe	,0%	,0%	10,0%	3,3%
lateralen Schenkel	Anzahl	0	4	5	9
	% von Behandlungsgruppe	,0%	40,0%	50,0%	30,0%
medialen Schenkel	Anzahl	4	3	0	7
	% von Behandlungsgruppe	40,0%	30,0%	,0%	23,3%
Gesamt	Anzahl	10	10	10	30
	% von Behandlungsgruppe	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Im Gesamtkollektiv lag in 13 (43,3%) Fällen eine Läsion im Ursprung des M.interosseus medius vor, bei 1 Pferd (3,3%) eine Body-Desmitis und in 16 Fällen waren die Endschenkel betroffen. Dies betraf bei 9 Pferden (30%) den lateralen und bei 7 Pferden (23,3%) den medialen Schenkel.

Von den 5 Pferden mit kombinierten Veränderungen zeigten 2 Pferde neben ihrem Hauptbefund im Ursprungsbereich des Fesselträgers Veränderungen im lateralen Schenkel.

2 Pferde hatten eine Läsion im Bereich des medialen Schenkels. Davon zeigte ein Pferd weitere Veränderungen im lateralen Schenkel und ein Pferd zusätzlich im

Bodybereich des M. interosseus medius. Ein weiteres Pferd zeigte neben seinem Hauptbefund im medialen Schenkel im gesamten Verlauf des Fesselträgers eine aufgelockerte Struktur.

#### **4.5.2 Sonographische Befunde des M. interosseus medius**

Bei der sonographischen Untersuchung wurde der M.interosseus medius in seinem gesamten Verlauf zuerst im Längs- und anschließend im Querschnitt untersucht. Im Falle einer Schenkelproblematik wurden diese zusätzlich in der Schrägprojektion dargestellt.

Insgesamt stellte sich bei allen Pferden der M.interosseus medius in seiner Textur inhomogener dar als die oberflächliche und tiefe Beugesehne.

##### **4.5.2.1 Ursprungsbereich des M.interosseus medius**

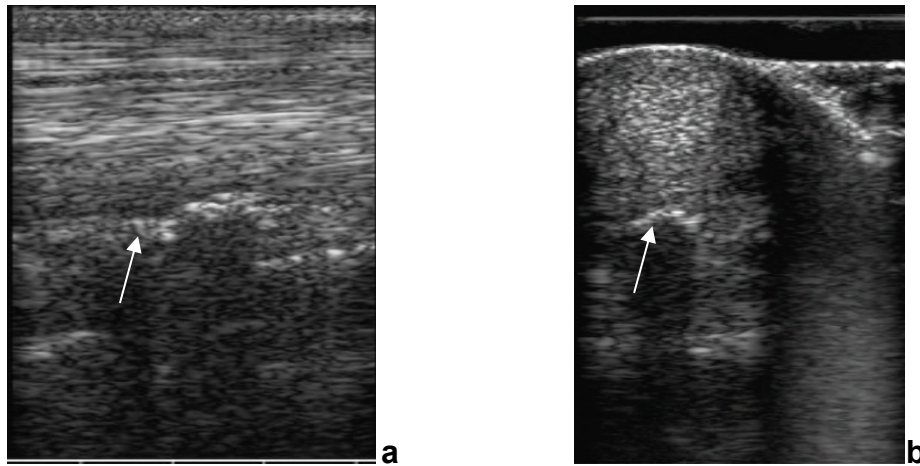
Bei Pferden mit Veränderungen im Ursprungsbereich des M.interosseus medius konnten folgende Abweichungen beobachtet werden:

- Vergrößerung bzw. Verdickung
- Schlechte Abgrenzung der Ränder
- Große diffuse Zonen mit verringerter Echogenität
- Veränderungen in der Sehnenfaserung
- Unregelmäßigkeiten in der Sehnenfaserstruktur
- Fokale oder diffuse Bereiche mit stark gesteigerter Echogenität

Eine Verdickung des Fesselträgers in seinem Ursprungsbereich war sowohl im Längs- als auch im Querschnitt gut zu erkennen. 10 der 13 Pferde mit einer Ursprungsproblematik zeigten eine solche Verdickung im Ultraschallbild. Einhergehend mit dieser Vergrößerung konnte der Fesselträger im Längsschnitt ungenau vom Unterstützungsband der tiefen Beugesehen sowie von der tiefen Beugesehne selbst abgegrenzt werden.

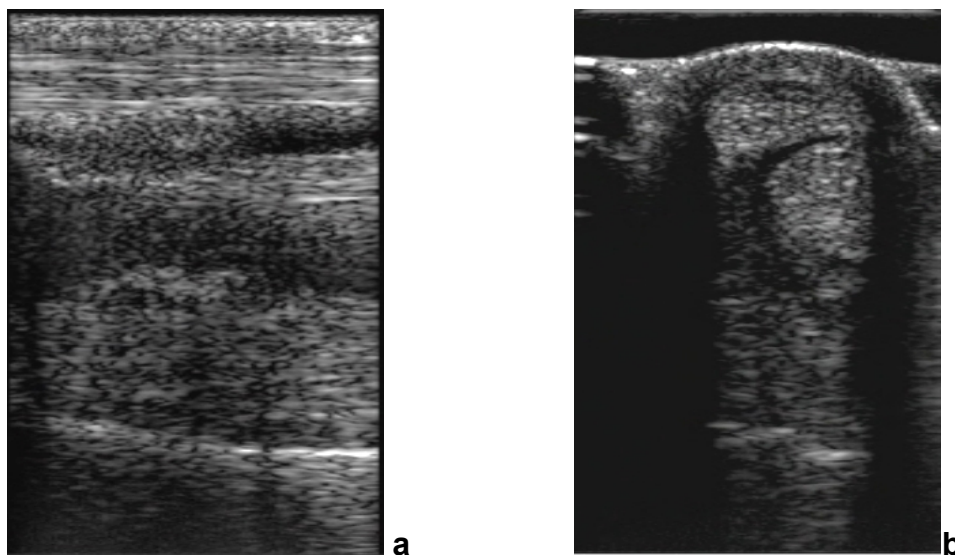
Bei all diesen Pferden zeigte der M.interosseus medius im Ursprungsbereich eine aufgelockerte und unregelmäßige Faserstruktur. Bei 3 Pferden war eine solch aufgelockerte Struktur, die sich durch eine verringerte Echogenität darstellte, die einzige Auffälligkeit in der Sonographie.

Bei 4 Pferden konnten fokale hyperechogene Bereiche beobachtet werden.



**Abb.21: Longitudinale (a) und transversale (b) Sonogramme des M.interosseus medius-Ursprungs vom rechten Vorderbein des Studienpferdes Nr. 2**

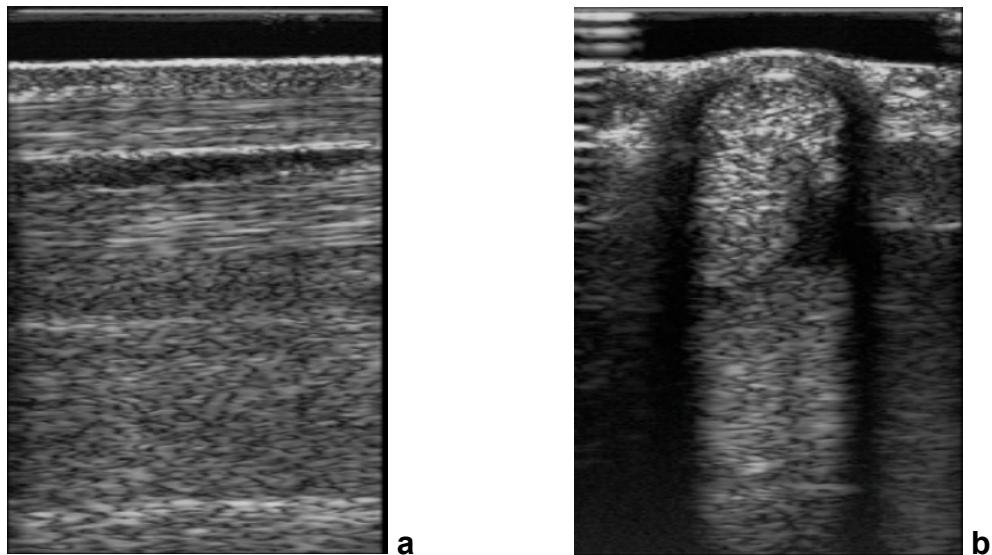
Der M.interosseus medius ist vergrößert und schwer vom umliegenden Gewebe abzugrenzen. Fokale hyperechogene Areale (Pfeil) mit anschließender Schallauslöschung stellen Mineralisationen dar.



**Abb.22: Sonographische Bilder im Längs- (a) und Querschnitt (b) der linken Hintergliedmaße eines 10-jährigen Warmblut-Wallachs (Studienpferd Nr.4)**

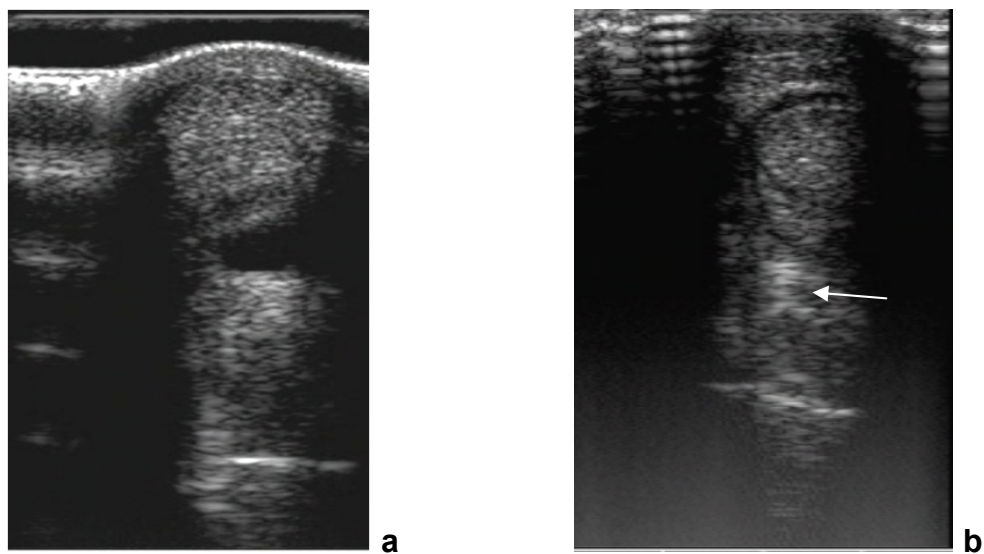
Der Ursprungsbereich des M.interosseus medius ist verdickt. In diesem Bereich zeigt sich eine diffus reduzierte Echogenität sowie eine aufgelockerte, unregelmäßige Faserstruktur.





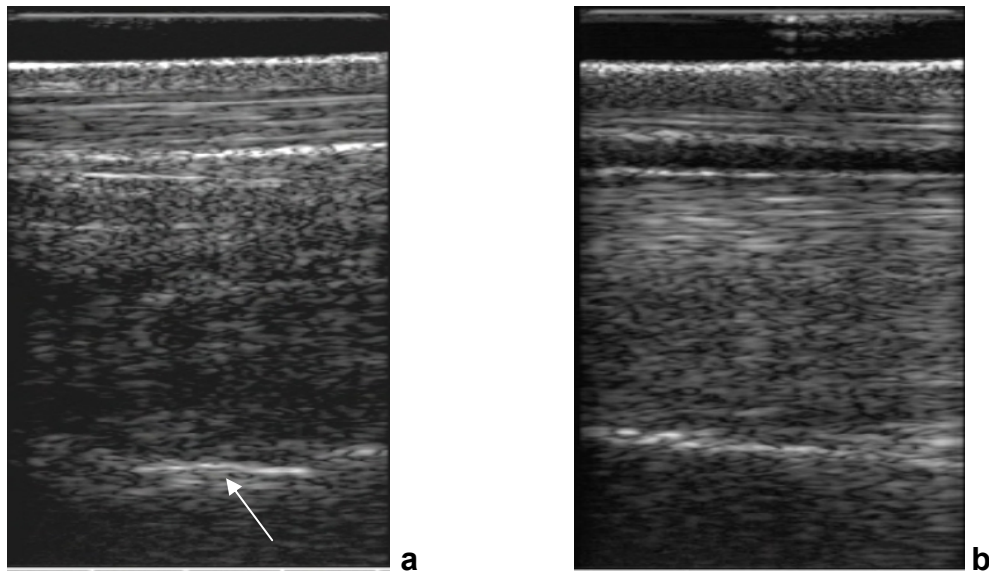
**Abb.23: Sonographische Bilder im Längs- (a) und Querschnitt (b) der linken Hintergliedmaße eines 15-jährigen Warmblut-Wallachs (Studienpferd Nr.26)**

Der M.interosseus ist hier stark verdickt und zeigt eine unregelmäßige Faserstruktur



**Abb.24: Ultraschallbilder des Ursprungsbereiches des M.interosseus medius im Querschnitt**

- a) Der M.interosseus medius eines rechten Hinterbeines (Studienpferd Nr.5) ist vergrößert und stellt sich im Querschnitt diffus hypoechogen dar. Der mediale Rand ist schlecht zu definieren.
- b) Auch hier zeigt sich im M.interosseus medius eine diffuse Zone in der linken Hintergliedmaße des Studienpferdes Nr.23 mit verringerter Echogenität. Zudem ist ein fokaler Bereich mit gesteigerter Echogenität (Pfeil) zu beobachten.



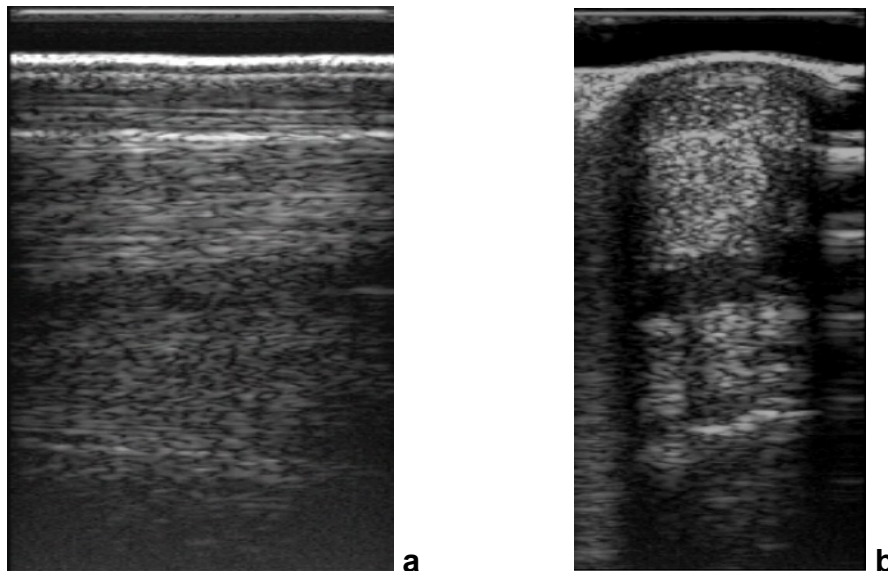
**Abb.25: Ultraschallbilder des Ursprungsbereiches des M.interosseus medius im Längsschnitt**

- a) M.Interosseus medius im Längsschnitt der rechten Hintergliedmaße einer 15-jährigen Hannoveraner-Stute (Studienpferd Nr.14). Der M.interosseus medius ist stark verdickt und diffus hypoechoogen. Außerdem stellt sich das Unterstützungsband der tiefen Beugesehne etwas weniger schalldicht dar und es zeigt sich eine leichte Knochenhautreaktion (Pfeil).
- b) Der M.interosseus medius der linken Hintergliedmaße einer 4-jährigen Oldenburger-Stute (Studienpferd Nr.19) ist vergrößert und schlecht abgrenzbar. Auch hier ist eine diffus reduzierte Echogenität zu beobachten.

#### 4.5.2.2 Body-Bereich des M.interosseus medius

Der Body-Bereich des M. interosseus medius war bei einem Pferd als Hauptbefund am Vorderbein verändert. Zwei weitere Pferde zeigten zusätzlich eine Veränderung in diesem Bereich. Hier war bei einem Pferd das Vorderbein, bei dem anderen Pferd das Hinterbein betroffen. Als sonographische Veränderungen waren hier zu beobachten:

- Verdickung
- Diffuse Reduktion der Echogenität
- Unregelmäßige und aufgelockerte Faserstruktur



**Abb.26: Longitudinale (a) und transversale (b) Sonogramme des Body-Bereiches (Region 3-4) eines 20-jährigen Hannoveraner-Wallachs**

Der M.interosseus medius ist vergrößert und unscharf begrenzt. Im Längs- (a) als auch im Querschall (b) erscheint er in seiner Faserstruktur aufgelockert, unregelmäßig und diffus hypoechogen.

#### **4.5.2.3 Schenkelbereich des M.interosseus medius**

Veränderungen an den Schenkeln des M.interosseus medius können an einem oder beiden Schenkeln auftreten. Insgesamt wiesen 16 Pferde Veränderungen in diesem Bereich auf. Dabei waren bei 9 Pferden der laterale Schenkel und bei 7 Pferden der mediale Schenkel betroffen. Außerdem zeigten 3 Pferde als Nebenbefund Veränderungen im Bereich des lateralen Fesselträgerschenkels.

Ultrasonographische Veränderungen im Bereich der Schenkel zeigten sich als:

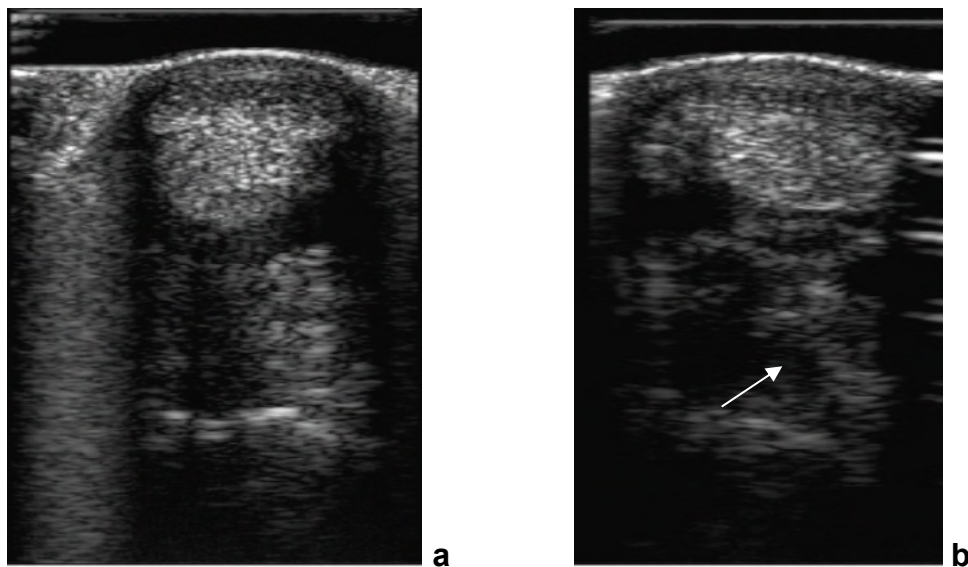
- Verdickung / Umfangsvermehrung des Schenkels
- Veränderung der Kontur des Schenkels
- Verlust der Begrenzungen
- Hypoechogene Bereiche im Schenkel (gut oder schlecht definiert)
- Veränderungen in der Faserung
- Echogenes Material zwischen den Schenkeln
- Hyperechogene Massen im Schenkel

Bei den Veränderungen im Schenkelbereich waren vor allem eine Verdickung des Schenkels sowie eine Auflockerung in der Faserstruktur zu beobachten. Bei 3

Pferden war eine solche Auflockerung im Ansatzbereich des Fesselträgerschenkels an den Gleichbeinen zu verzeichnen.

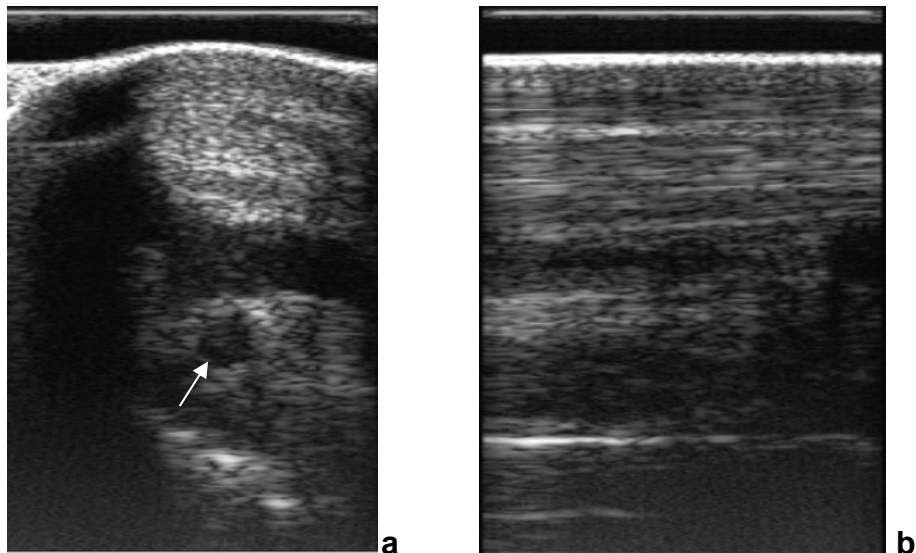
7 Pferde zeigten im Ultraschallbild am Schenkel hypoechogene Bereiche. Bei einem Pferd war ein solcher Bereich gut definiert und die Abweichung kann als *Loch* beschrieben werden.

Bei 5 Pferden war vermehrtes echogenes Material in der Schenkelumgebung zu beobachten. Dieses befand sich vor allem subcutan und zwischen den Schenkeln gelegen. In der Folge war der Fesselträgerschenkel schwierig vom umliegenden Gewebe abzugrenzen.



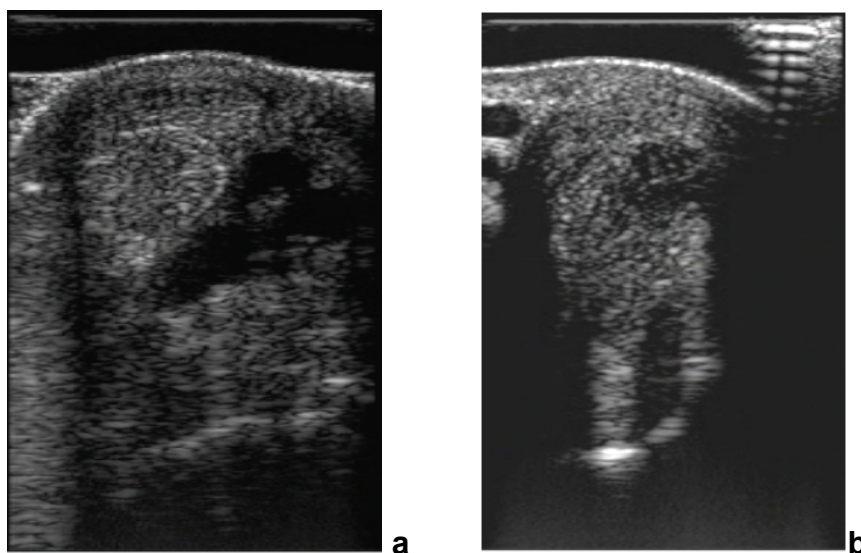
**Abb.27: Transversale Ultraschallbilder des medialen Schenkels des M.interosseus medius eines 15-jährigen Andalusier-Mix (a) und eines 7-jährigen Warmblutwallachs (b)**

Der mediale Schenkel ist im linken Bild (a) verdickt und seine Ränder sind unscharf begrenzt. In beiden Bildern zeichnet sich der mediale Schenkel durch eine diffus reduzierte Echogenität aus, die sich im rechten Bild deutlicher darstellt (Pfeil).



**Abb.28: Transversale (a) und longitudinale (b) Ultraschallbilder einer 17-jährigen Hannoveraner-Stute (Studienpferd Nr.25)**

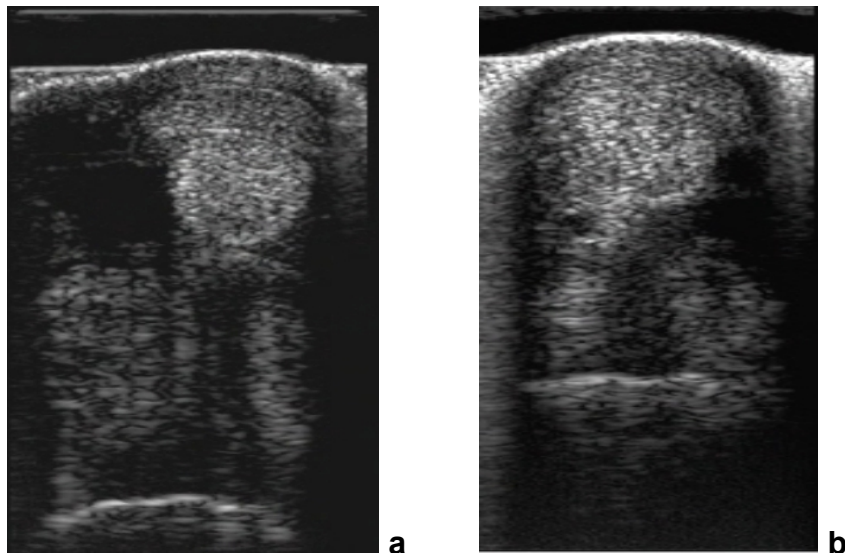
- a) Der mediale Schenkel des M.interosseus medius ist hier verdickt. Er weist einen gut definierten, fokalen hypoechoenen Bereich auf (Pfeil). Im gesamten Querschnitt erscheint der Schenkel aufgelockert.
- b) Das Ultraschallbild zeigt denselben Bereich im Längsschnitt. Hier fällt eine diffus reduzierte Echogenität auf.



**Abb.29: Medialer Schenkel eines 8-jährigen Warmblut-Wallachs (Studienpferd Nr.18) im Querschall (a) und in der Schrägprojektion (b)**

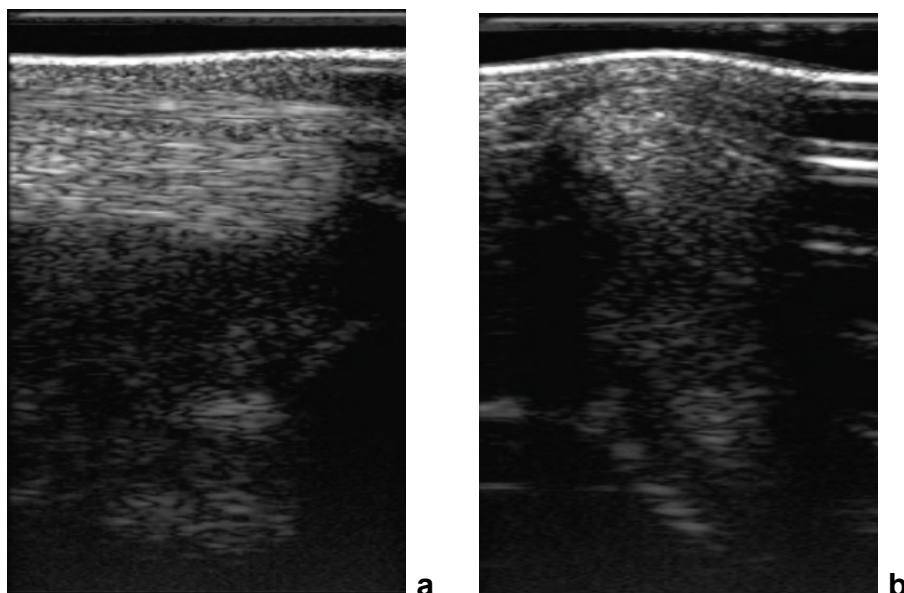
Der Schenkel ist stark verdickt, unscharf begrenzt und zeigt eine diffus reduzierte Echogenität (links). In der Schrägdarstellung stellt sich im Schenkel ein stark hypoechoener Bereich dar sowie umliegendes echodichtes Material.





**Abb.30: Sonogramme des Schenkelbereiches des M.interosseus medius im Querschall eines 11-jährigen Warmblutwallachs (a) und eines 19-jährigen Andalusiers (b)**

- a) Hier ist der laterale Schenkel (links im Bild) deutlich verdickt und diffus in seiner Echogenität stark reduziert.
- b) Der mediale Schenkel (rechts im Bild) ist unscharf begrenzt und zeigt schlecht definierte hypoechoogene Bereiche.



**Abb.31: Longitudinale (a) und transversale (b) Sonogramme des medialen Schenkels eines 19-jährigen Andalusier-Wallachs in seinem Ansatzbereich am medialen Gleichbein**

Der Schenkel ist in diesem Bereich stark aufgelockert und diffus hypoechoogen.

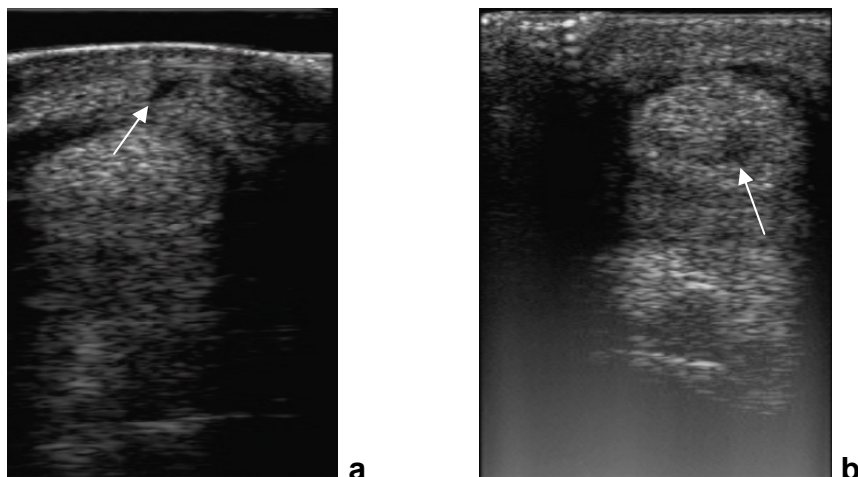
### 4.5.3 Zusätzliche Befunde im Ultraschall

Die sonographische Untersuchung der distalen Gliedmaßen wurde ausführlich durchgeführt, und es fand eine Beurteilung und Dokumentation aller Strukturen in diesem Bereich statt. So fielen neben den Läsionen im M.interosseus medius auch teilweise vorhandene Veränderungen in den Sehnen und den Bereichen zwischen den Sehnen und der Haut auf.

Als Nebenbefunde waren so auch Läsionen in der oberflächlichen und tiefen Beugesehne zu beobachten. Bei einem Pferd war zusätzlich das Unterstützungsband der tiefen Beugesehnen aufgelockert und weniger schalldicht. Zusätzlich fielen bei einigen Pferden vermehrt gefüllte Sehnenscheiden in der ultrasonographischen Untersuchung auf. Außerdem stellte sich bei einzelnen Pferden die Knochenlinie in fokalen Bereichen stark hyperechogen dar.

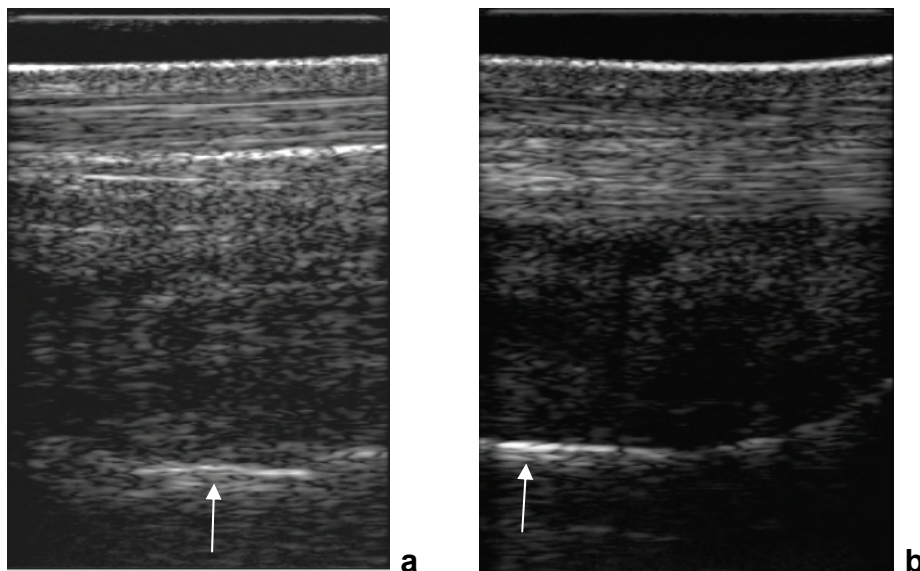
Des Weiteren konnten bei vereinzelt Pferden - mit Veränderungen des M.interosseus medius im Schenkelbereich - echogenes Material zwischen den Schenkeln und zwischen Haut und Schenkel im Ultrasonogramm beobachtet werden.

Als weiterer zusätzlicher Befund fielen in der Untersuchung fokale, hyperechogene Massen im M.interosseus medius auf, hier vor allem im Bereich der Bifurkation.



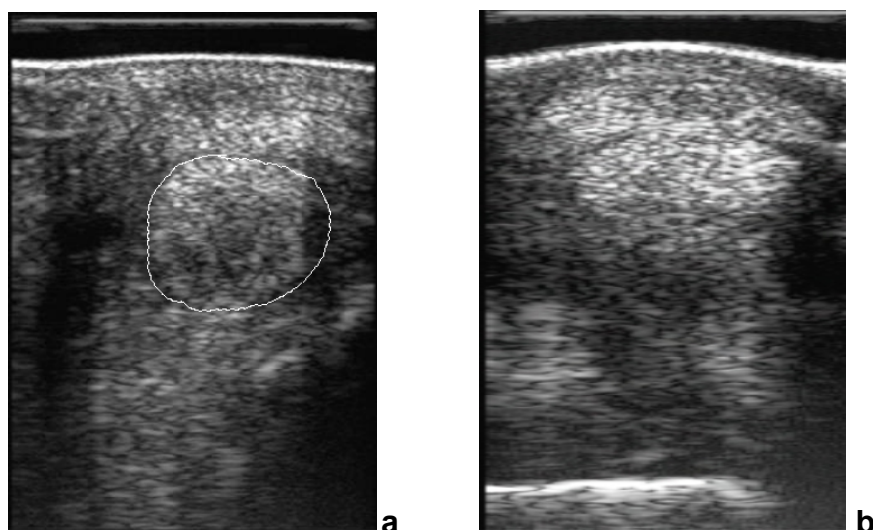
**Abb.32: Sonographischer Querschall mit Nebenbefunden**

- a) Querschall im Bereich des lateralen Schenkels des M.interosseus medius mit einer zusätzlichen Läsion in der oberflächlichen Beugesehne (Pfeil).
- b) Querschall im Bereich der Bifurkation des M.interosseus medius mit einer Läsion in der tiefen Beugesehne (Pfeil).



**Abb.33: Sonogramme der distalen Gliedmaße im Längsschall mit Nebenbefunden**

Hier fallen einmal im Bereich des Ursprungs (a) und im Bereich des Gleichbeinansatzes (b) des M.interosseus medius stark hyperechogene Zonen im Bereich der Knochenlinie auf. In diesen Bereichen ist die Knochenhaut sklerotisch verändert.



**Abb.34: Sonogramme der Schenkel des M.interosseus medius in der Schrägprojektion (a) und im Querschall (b)**

- a) Der laterale Schenkel des M.interosseus medius ist deutlich von echogenem Material umgeben, vor allem subkutan. Der Schenkel ist undeutlich vom umliegenden Gewebe abzugrenzen.
- b) Die beiden Schenkel des M.interosseus medius sind hier im Bild von echogenem Material umgeben, das sich vor allem zwischen den beiden Schenkeln befindet.



#### **4.5.4 Ultraschallbefunde der Nachkontrollen**

Der Heilungsverlauf des M.interosseus medius wurde nach Applikation einer der drei Substanzen zweimal im Abstand von 6 Wochen sonographisch erfasst und verfolgt.

##### **4.5.4.1. Behandlungsgruppe A**

In der Gruppe A hatte sich bei der ersten Kontrolluntersuchung eine bestehende Verdickung des M.interosseus medius nicht wesentlich verändert. Auch bei der zweiten Kontrolluntersuchung war bei allen Pferden die bestehende Verdickung vorhanden. Vor allem im Vergleich der zweiten Kontrolluntersuchung zu den Ultraschallbildern zu Studienbeginn fiel auf, dass das Gewebe dichter und echogener geworden war. In den veränderten Bereichen waren neugebildete Fasern zu erkennen, die in ihrer Struktur noch sehr unregelmäßig erschienen.

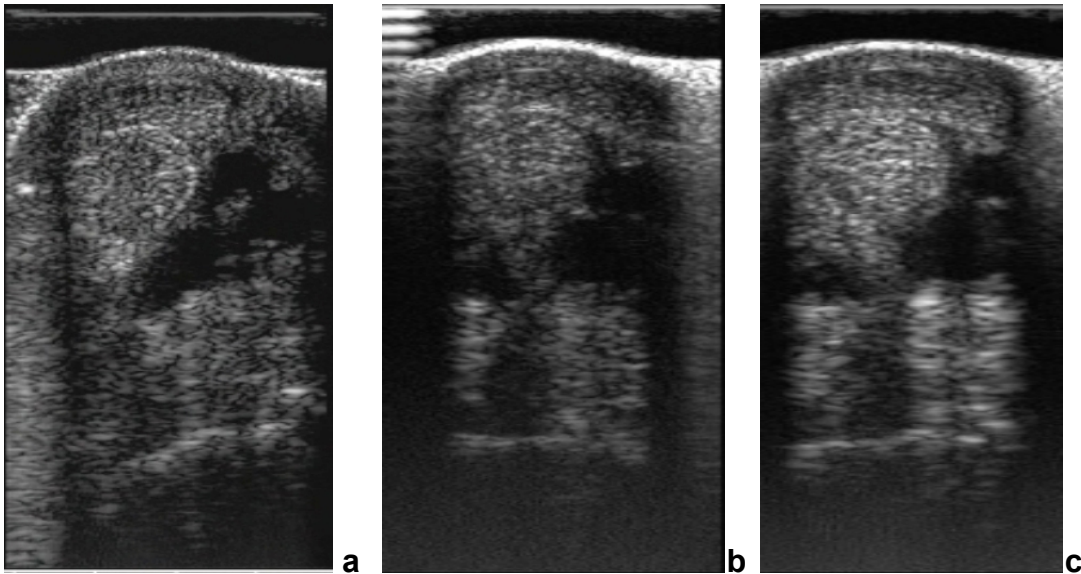
Bei einem Pferd mit einem akuten Schaden des Fesselträgerschenkels war der Defekt schon bei der ersten Kontrolluntersuchung deutlich mit Fasern aufgefüllt.

Zwei Pferde mit Veränderungen im Schenkelbereich wiesen bei der dritten Ultraschalluntersuchung vermehrtes echogenes Material im Bereich zwischen den Fesselträgerschenkeln auf.

#### **Fallbeispiele der Behandlungsgruppe A**

##### Studienpferd Nr.18

Die sonographischen Bilder zeigen den medialen Schenkel des M.interosseus medius, eines 8-jährigen Warmblut-Wallachs. Das Pferd war zu Studienbeginn seit 6 Wochen lahm und zeigte bei der ersten Vorstellung eine deutlich geringgradige Stützbeinlahmheit der linken Vordergliedmaße.

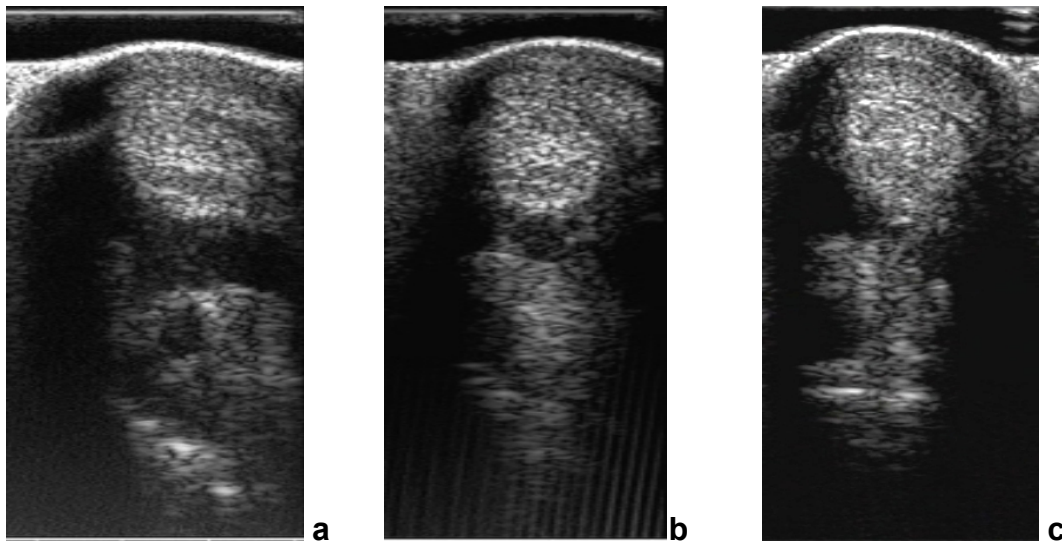


**Abb.35: Transversale Sonogramme in Region 5 des linken Vorderbeins des Studienpferdes Nr.18**

- a) Der mediale Schenkel des M.interosseus medius ist stark verdickt, unscharf begrenzt und zeigt stark aufgelockerte Bereiche.
- b) Nach 6 Wochen ist der mediale Schenkel verdickt, aber in seiner Kontur und seinen Begrenzungen besser darstellbar.
- c) Bei der 2. Kontrolluntersuchung nach weitem 6 Wochen ist der mediale Schenkel verdickt. Das Gewebe erscheint dichter und echogener mit kleinen fokalen hyperechogenen Bereichen.

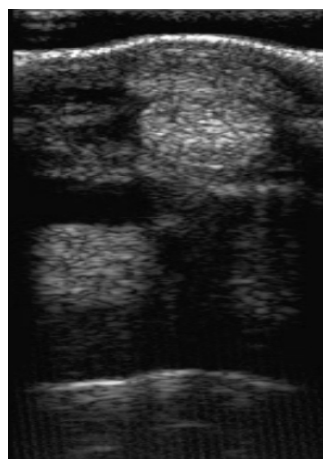
#### Studienpferd Nr.25

Die 17-jährige Hannoveraner-Stute zeigte seit Anfang des Jahres 2009 eine immer wieder auftretende Lahmheit hinten links, die auf weichem Boden deutlicher war als auf hartem. Bei der Erstvorstellung zeigte die Stute eine mittelgradige Lahmheit hinten links.



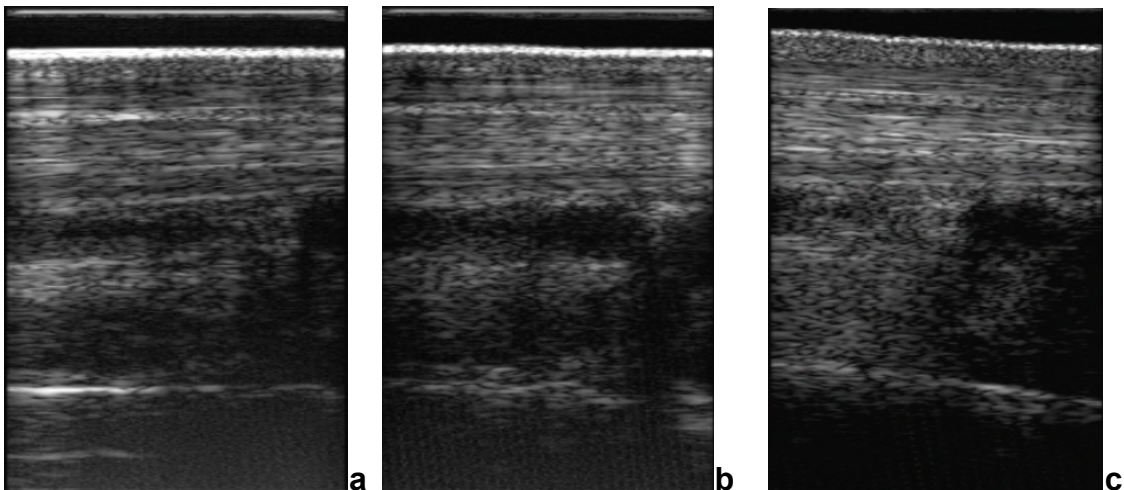
**Abb.36: Transversale Sonogramme der Region 5 im Bereich des medialen Schenkels des M.interosseus medius des linken Hinterbeins**

- a) Der mediale Schenkel ist verdickt und in seiner Kontur verändert. Der Schenkel ist in seiner Struktur stark aufgelockert und zeigt einen fokalen hypoechoenen Bereich. An diesen Bereich angrenzend fällt eine kleine, hyperechogene Masse auf.
- b) Der Schenkel ist nach 6 Wochen nach wie vor verdickt und in seiner Kontur verändert. Der hypoechoene Bereich ist in der Form nicht mehr darstellbar und mit Fasern aufgefüllt. Die Struktur des medialen Schenkels stellt sich in diesem Bereich aber noch aufgelockert und unregelmäßig dar.
- c) Nach insgesamt 12 Wochen zeigt der mediale Schenkel eine noch vorhandene Verdickung. Hingegen ist er abgrenzbar und zeigt eine deutlichere Kontur. Es sind hyperechogene Fasern darstellbar, die eine unregelmäßige Struktur zeigen.



**Abb.37: Der laterale Schenkel im Querschall auf gleicher Höhe zum Vergleich**

Er ist klar abgrenzbar, stellt sich regelmäßig echogen dar und zeigt eine gleichmäßige Struktur.



**Abb.38: Longitudinale Sonogramme des linken Hinterbeins in Region 5 des Studienpferdes Nr.25**

- a) Der mediale Schenkel des M.interosseus medius ist verdickt und in seiner Struktur aufgelockert und unregelmäßig. Die Knochenhaut erscheint in diesem Bereich stark hyperechogen.
- b) Nach 6 Wochen ist der mediale Schenkel verdickt und zeigt nach wie vor eine aufgelockerte und unregelmäßige Struktur.
- c) Nach weiteren 6 Wochen ist immer noch eine Verdickung zu erkennen. Das Gewebe erscheint dichter und echogener. Zusätzlich ist der Schenkel von echogenem Material umgeben.

#### **4.5.4.2. Behandlungsgruppe B**

In Gruppe B fiel bei allen Pferden bei der ersten Kontrolluntersuchung vermehrte Echogenität in der Region der festgestellten Veränderung auf. Bei der zweiten Nachkontrolle waren zum Teil hyperechogene Bereiche zu beobachten sowie vermehrt echogenes Material zwischen den Fesselträgerschenkeln.

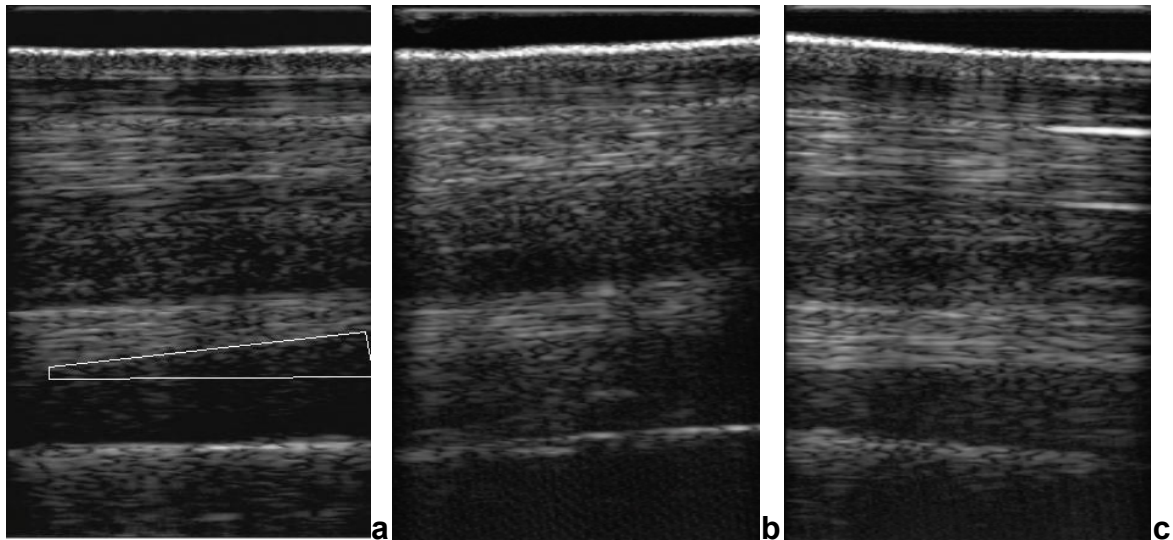
#### **Fallbeispiele der Behandlungsgruppe B**

##### Studienpferd Nr.20

Die folgenden Ultraschallbilder zeigen die distale Gliedmaße der rechten Hintergliedmaße einer 14-jährigen Westfalen-Stute.

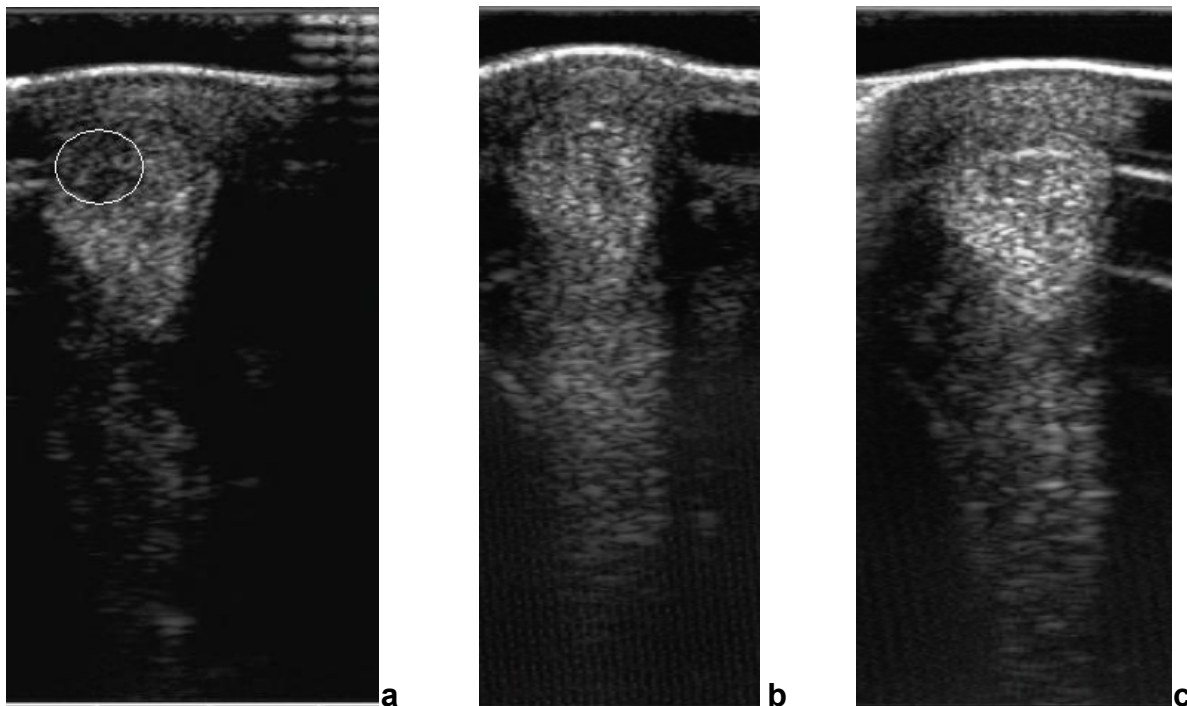
Das Pferd zeigte beim ersten Vorstellungstermin eine undeutlich geringgradige Lahmheit hinten rechts, die sich auf weichem Boden deutlicher zeigte als auf hartem.

Laut Vorbericht hatte die Stute nach einem Reitturnier 7 Wochen zuvor hinten rechts ein dickes Bein und zeigte zu diesem Zeitpunkt eine deutliche Lahmheit.



**Abb.39: Longitudinale Ultraschallaufnahmen in Region 5 des lateralen Schenkels des M.interosseus medius des Studienpferdes Nr.20**

- a) Der laterale Schenkel erscheint im plantaren Bereich stark hypoechogen und zeigt einen deutlichen Strukturverlust (Markierung).
- b) Nach 6 Wochen sind in diesem Bereich Fasern vorhanden. Die Struktur zeigt sich noch sehr unregelmäßig und aufgelockert. Im Bereich um den Fesselträgerschenkel ist vermehrt echogenes Gewebe zu beobachten.
- c) Nach weiteren 6 Wochen erscheint der Fesselträgerschenkel dichter und echogener mit einer noch unregelmäßigen Struktur. Der Schenkel ist von echogenem Gewebe umgeben.



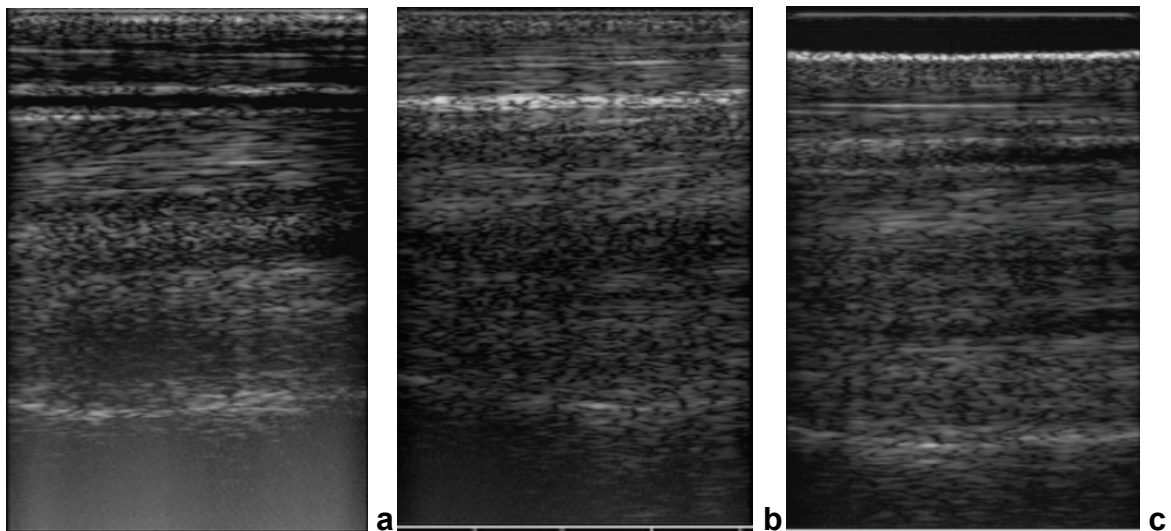
**Abb.40: Der laterale Schenkel des M.interosseus medius in der Schrägprojektion**

- a) Der Schenkel zeigt einen fokalen hypoechogenen Bereich mit Strukturauflösung (Markierung). Des Weiteren fällt subkutan gelegenes echogenes Gewebe auf.
- b) Nach 6 Wochen ist der Bereich größtenteils mit Fasern aufgefüllt, die eine sehr unregelmäßige Struktur zeigen. Es fallen kleine fokale hyperechogene Bezirke auf und der Schenkel ist von echogenem Gewebe umgeben.
- c) Nach insgesamt 12 Wochen zeigt der Schenkel in dem beschriebenen Bereich eine noch aufgelockerte Struktur. Außerdem sind hyperechogene Verdichtungen und eine deutliche Gewebszubildung um den Fesselträgerschenkel zu beobachten.

#### Studienpferd Nr.23

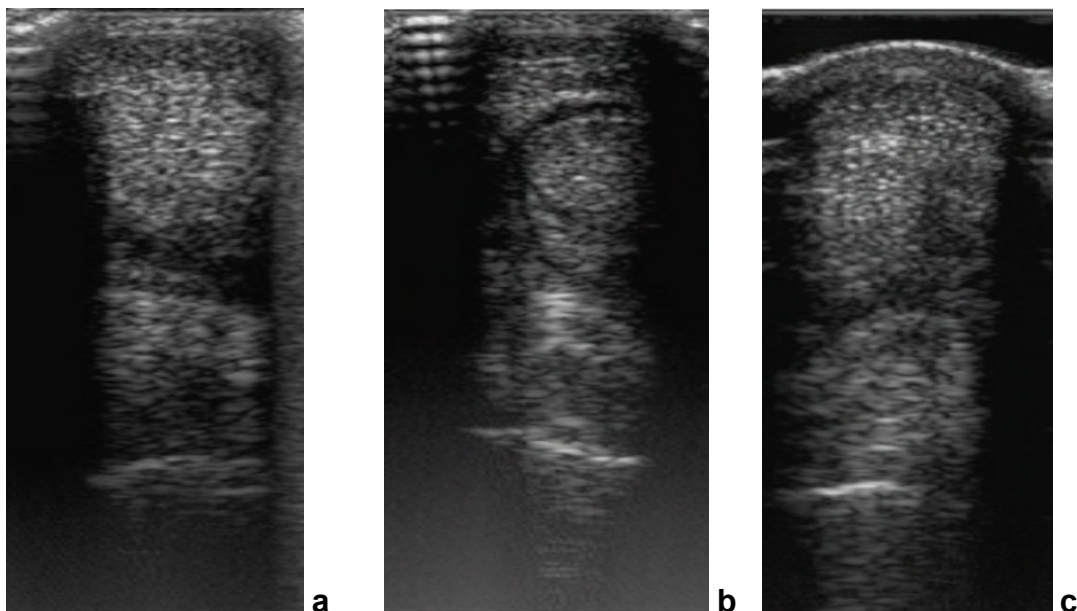
Der 15-jährige Hannoveraner-Wallach zeigte bei der ersten Vorstellung insgesamt eine deutlich geringgradige Lahmheit hinten links auf gerader und gebogenere Linie. Auf weichem Boden sowie bei Führung der betroffenen Gliedmaße auf der Außenseite war die Lahmheit deutlicher zu erkennen.





**Abb.41: Die longitudinale Sonogramme zeigen die Ursprungsregion des M.interosseus medius des linken Hinterbeines von Studienpferd Nr. 23**

- a) Der M.interosseus ist stark verdickt und zeigt eine diffuse Zone mit verringerter Echogenität. Die Struktur ist unregelmäßig und aufgelockert.
- b) Nach 6 Wochen zeigt der M.interosseus medius eine Verdickung und eine aufgelockerte und unregelmäßige Struktur.
- c) Nach insgesamt 12 Wochen sind die Begrenzungen des M.interosseus medius besser zu erkennen und er zeigt eine gleichmäßigere Echogenität. An der Knochenlinie sind leichte Sklerosierungszonen zu erkennen.

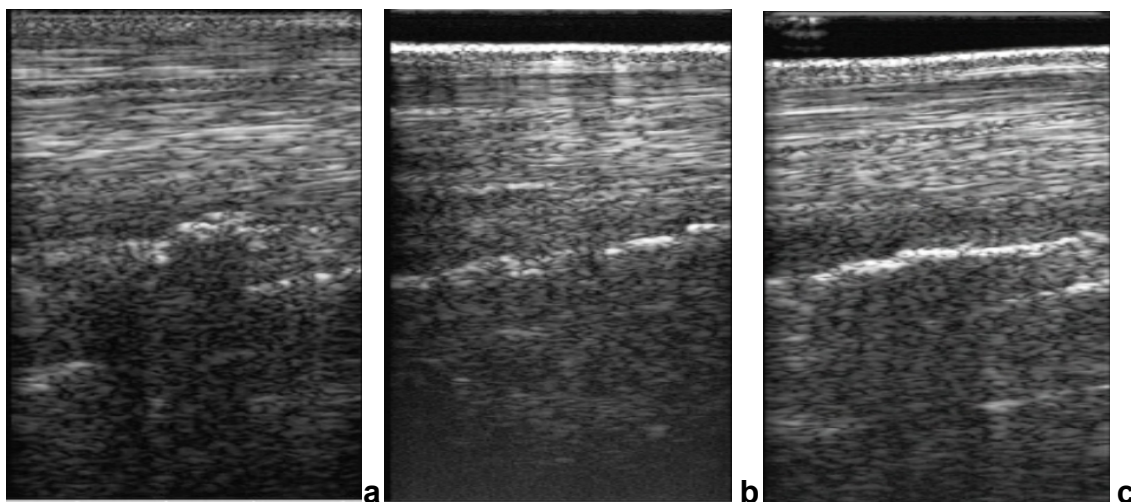


**Abb.42: Transversale Sonogramme der Ursprungsregion des M.interosseus medius der linken Hintergliedmaße von Studienpferd Nr. 23**

- a) Der M.interosseus medius ist stark verdickt und diffus in seiner Echogenität reduziert. Seine Ränder sind schwer abzugrenzen und seine Struktur unregelmäßig.
- b) Nach 6 Wochen zeigt der M.interosseus medius eine Verdickung und einen Bereich mit reduzierter Echogenität. Zudem fällt eine fokale Zone mit gesteigerter Echogenität auf. Die Knochenhaut stellt sich ebenfalls hyperechogen dar.
- c) Weitere 6 Wochen später zeigt sich der M.interosseus medius insgesamt echogener. Die Struktur ist zum Teil etwas aufgelockert und unregelmäßig. Des Weiteren ist eine hyperechogene Zone im Bereich der Knochenlinie zu beobachten.

### Studienpferd Nr. 2

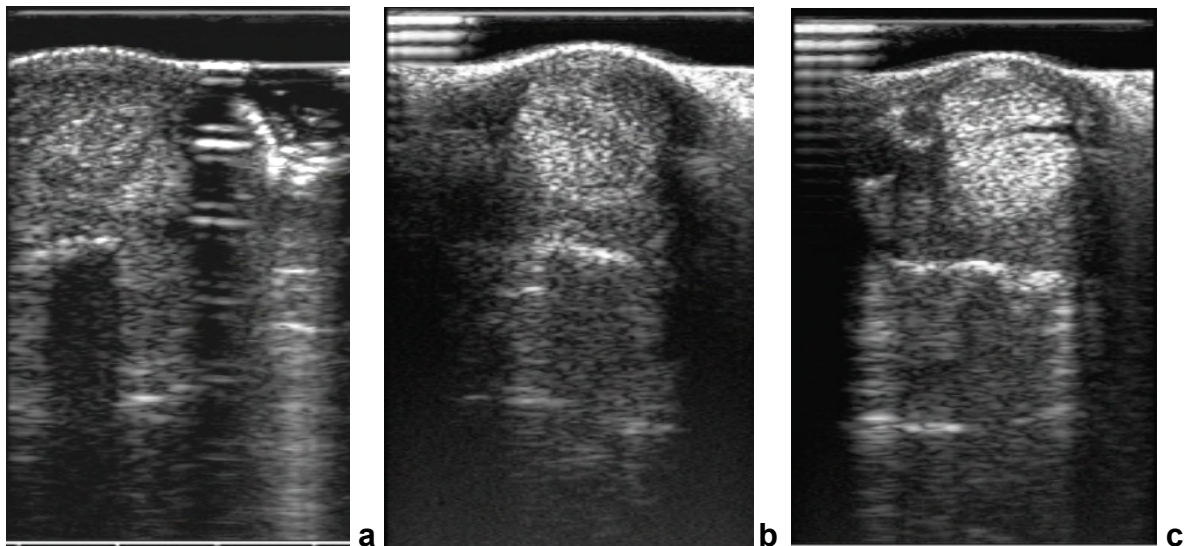
Der 16-jährige Warmblut-Wallach hatte mit 6 Jahren vorberichtlich seinen ersten Fesselträgerschaden und hat seitdem immer wiederkehrende Probleme in diesem Bereich. Das Pferd zeigte bei der Vorstellung im Trab eine deutlich geringgradige Lahmheit, die sich auf weichem Boden eindeutiger zeigte.



**Abb.43: Sonographische Bilder im Längsschall im zeitlichen Verlauf vom Ursprungsbereich des M.interosseus medius**

- a) Zum Zeitpunkt der ersten Vorstellung
- b) Kontrolluntersuchung nach 6 Wochen
- c) Zweite Kontrolluntersuchung nach insgesamt 12 Wochen





**Abb.44: Ursprungsbereich des M.interosseus medius im Querschall zu allen 3 Untersuchungszeitpunkten**

- a) Erstvorstellung
- b) Untersuchung nach 6 Wochen
- c) Kontrolluntersuchung nach weiteren 6 Wochen

Der M.interosseus medius ist allen Abbildungen vergrößert und schwierig vom umliegenden Gewebe abzugrenzen. Er zeigt einen deutlichen Strukturverlust. Fokale hyperechogene Areale mit anschließender Schallauslöschung stellen Mineralisationen dar.

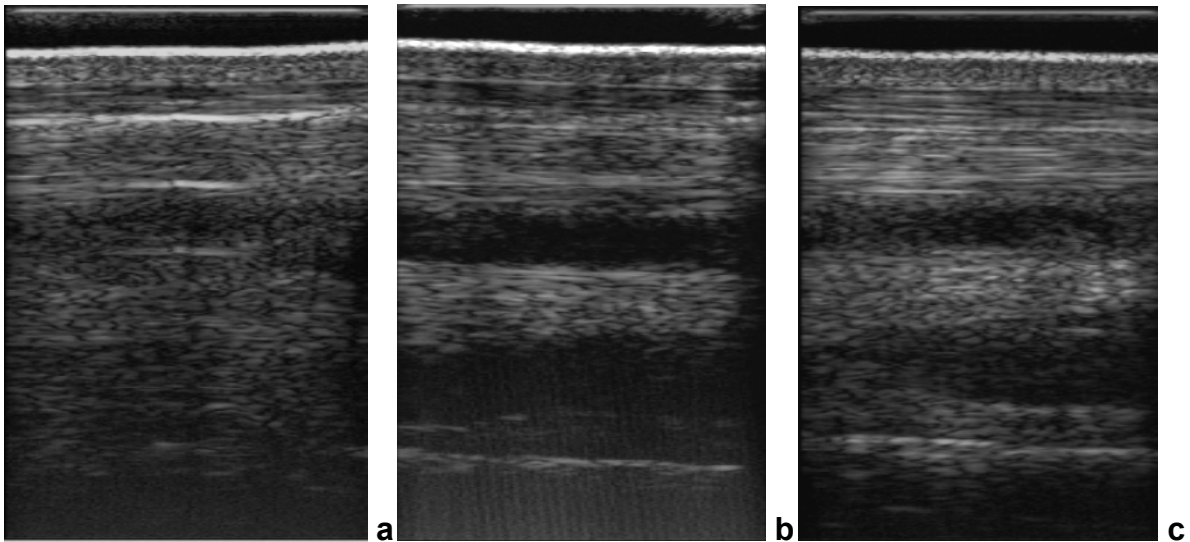
#### **4.5.4.3. Behandlungsgruppe C**

Im Verlaufe der Kontrolluntersuchungen nahm bei den Pferden der Gruppe C die Echogenität des M.interosseus medius in den veränderten Bereichen zu. Nach 6 Wochen war bei allen Pferden dieser Gruppe dichteres Gewebe zu beobachten. Nach 3 Monaten fielen zum Teil verdichtete Zonen und stark hyperechogene Bereiche auf. Bei einem Pferd war eine Gewebezubildung in Gefäßnähe zu verzeichnen.

#### **Fallbeispiele der Behandlungsgruppe C**

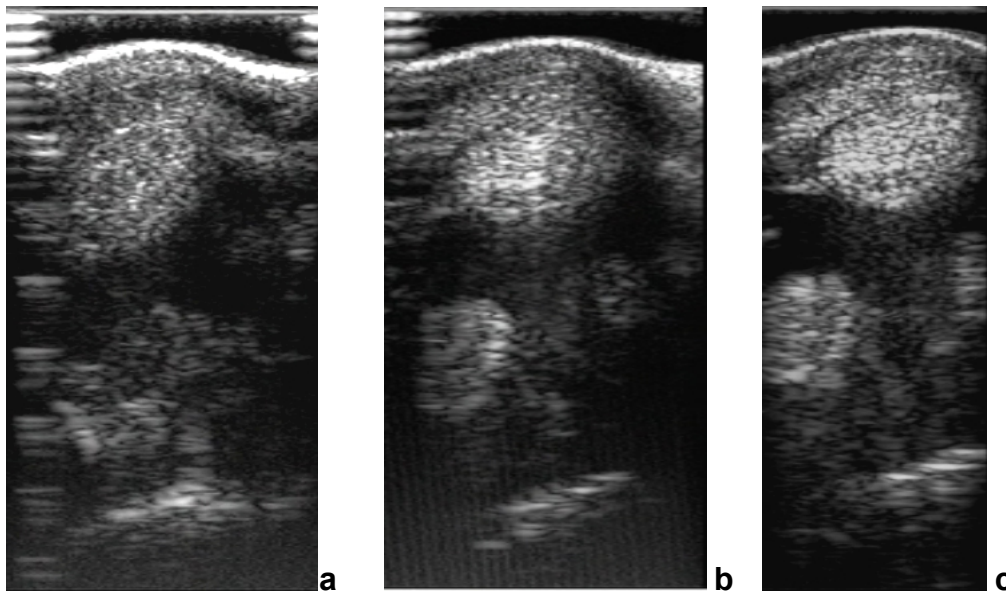
##### Studienpferd Nr. 24

Der 9-jährige Hannoveraner-Wallach zeigte seit 5 Monaten eine geringgradige Lahmheit der linken Hintergliedmaße. Die Lahmheit zeigte sich deutlicher auf weichem Boden und beim Vorführen des Pferdes auf der linken Hand.



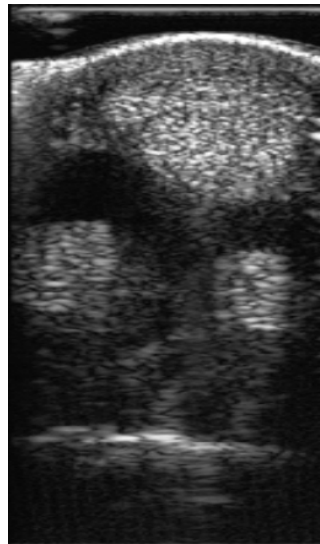
**Abb.45: Longitudinale Sonogramme des lateralen Schenkels des M.interosseus medius im zeitlichen Verlauf**

- a) Der laterale Schenkel ist verdickt und schwierig vom umliegenden Gewebe abzugrenzen. Die Struktur ist diffus stark aufgelockert und der Faserverlauf unregelmäßig.
- b) Nach 6 Wochen sind die Konturen und die Begrenzungen des lateralen Schenkels zu erkennen. Das Gewebe stellt sich echogener und dichter dar.
- c) Weitere 6 Wochen später stellt sich das Gewebe des M.interosseus medius echogener in einer noch unregelmäßigen Struktur dar. Im Bereich um den Fesselträgerschenkel ist echogenes Material zu erkennen.



**Abb.46: Der laterale Schenkel des M.interosseus medius im Querschnitt zu allen 3 Untersuchungszeitpunkten**

- a) Der laterale Schenkel ist stark verdickt und seine Konturen schlecht zu erkennen. Die Echogenität ist diffus reduziert und die Struktur stark aufgelockert. Der Knochen zeigt eine leichte Sklerosierungszone.
- b) Die Begrenzungen des lateralen Schenkels sind nach 6 Wochen besser zu erkennen. Die Struktur stellt sich etwas dichter dar. Es sind fokale hyperechogene Bereiche zu beobachten sowie echogenes Material in der Umgebung des Schenkels.
- c) Nach insgesamt 12 Wochen ist der laterale Schenkel deutlich abgrenzbar und zeigt eine dichte und noch leicht unregelmäßige Struktur. Zwischen den Schenkeln und in ihrer Umgebung ist echogenes Gewebe darzustellen. Die Knochenlinie zeigt fokale stark hyperechogene Bereiche.

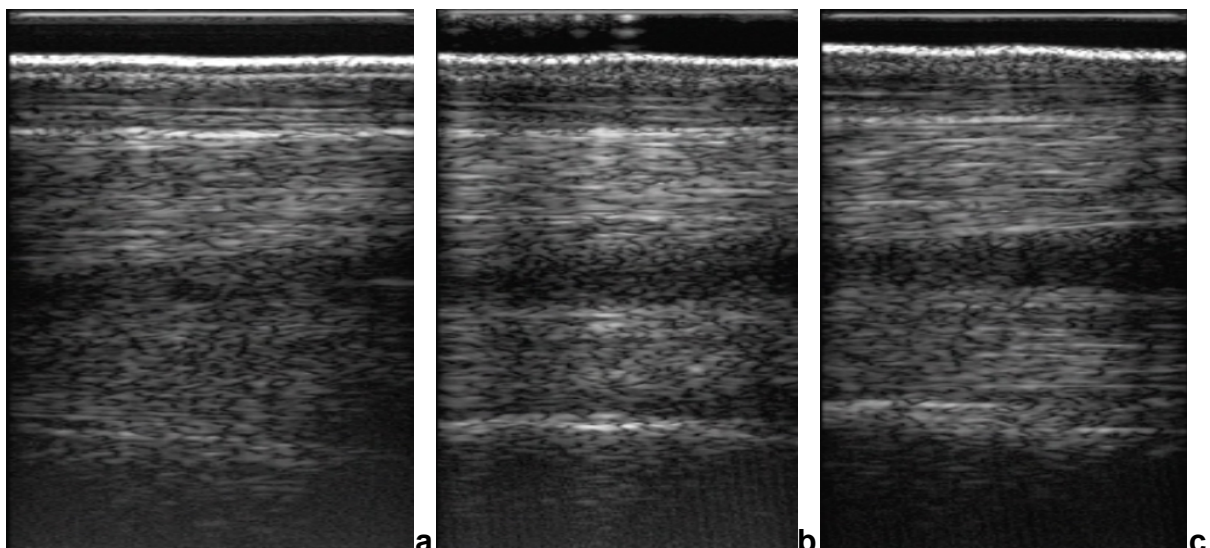


**Abb.47: Beide Schenkel des M.interosseus medius im Vergleich auf Höhe der Veränderung des lateralen Schenkels bei der 2. Kontrolluntersuchung**

Der laterale Schenkel (links im Bild) ist noch geringgradig umfangsvermehrt und im Vergleich zum medialen Schenkel in seiner Echogenität leicht reduziert. Zwischen den Schenkeln ist echogenes Gewebe darzustellen.

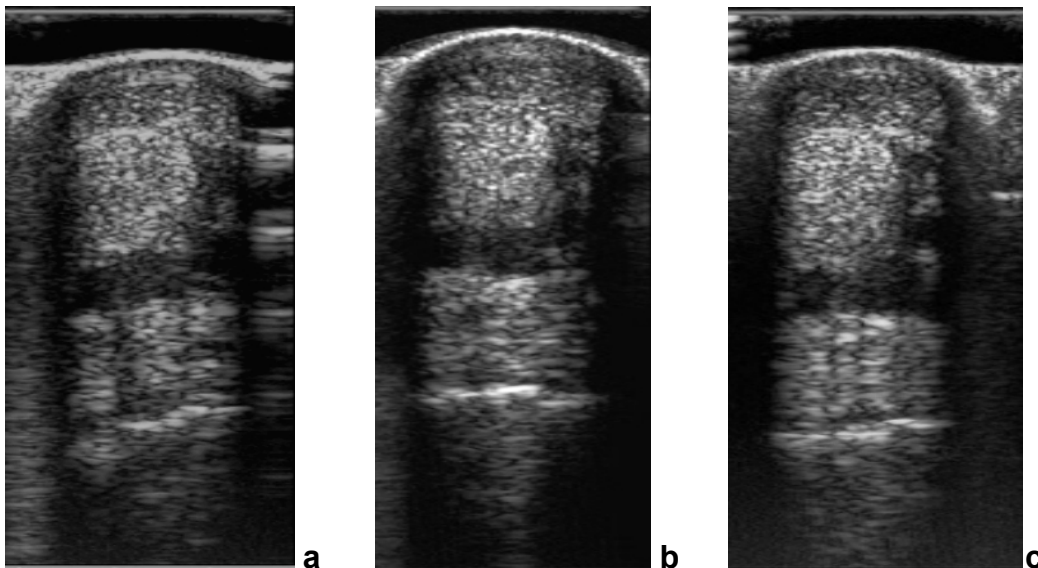
Studienpferd Nr. 29

Der 20-jährige Warmblut-Wallach kam vor 3,5 Wochen von der Wiese und zeigte eine mittelgradige Stützbeinlahmheit vorne rechts. Die Palpation des Fesselträgers war im Bodybereich schmerzhaft.



**Abb.48: Longitudinale Sonogramme des Body-Bereiches der rechten Vordergliedmaße zu allen 3 Untersuchungszeitpunkten**

- a) Der M.interosseus medius ist vergrößert und unscharf begrenzt. Seine Faserstruktur erscheint aufgelockert, unregelmäßig und diffus hypoechogen.
- b) Die Umfangsvermehrung des M.interosseus medius hat sich nach 6 Wochen reduziert. Das Gewebe erscheint echogener mit fokal hyperechogenen Bereichen. Die Knochenlinie zeigt ebenfalls einen hyperechogenen Bezirk.
- c) Nach insgesamt 12 Wochen stellt sich der M.interosseus medius echogen mit noch etwas unregelmäßiger Struktur dar.



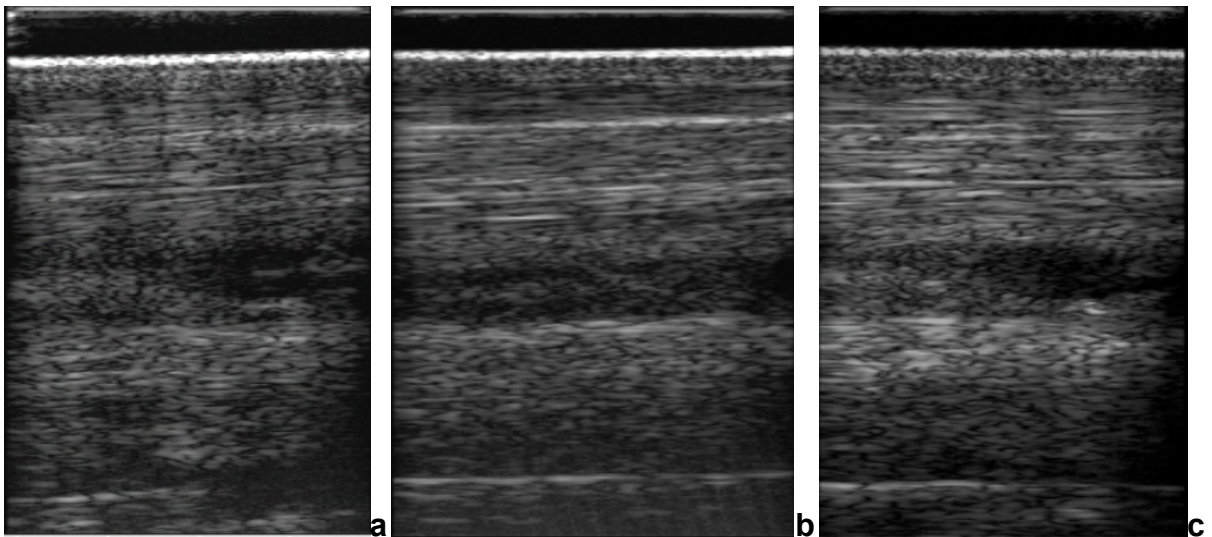
**Abb.49: Der Body-Bereich des M.interosseus medius im Querschall zum Zeitpunkt 0, nach 6 und 12 Wochen**

- a) Der M.interosseus medius ist verdickt. Die Struktur ist aufgelockert und unregelmäßig.
- b) Nach 6 Wochen stellt sich das Gewebe etwas echogener dar. Es ist ein hyperechogener Bereich in der Knochenlinie zu beobachten.
- c) Nach 12 Wochen ist das veränderte Gebiet noch etwas unregelmäßig und es sind fokal stark echogene Bereiche zu erkennen.

#### Studienpferd Nr. 12

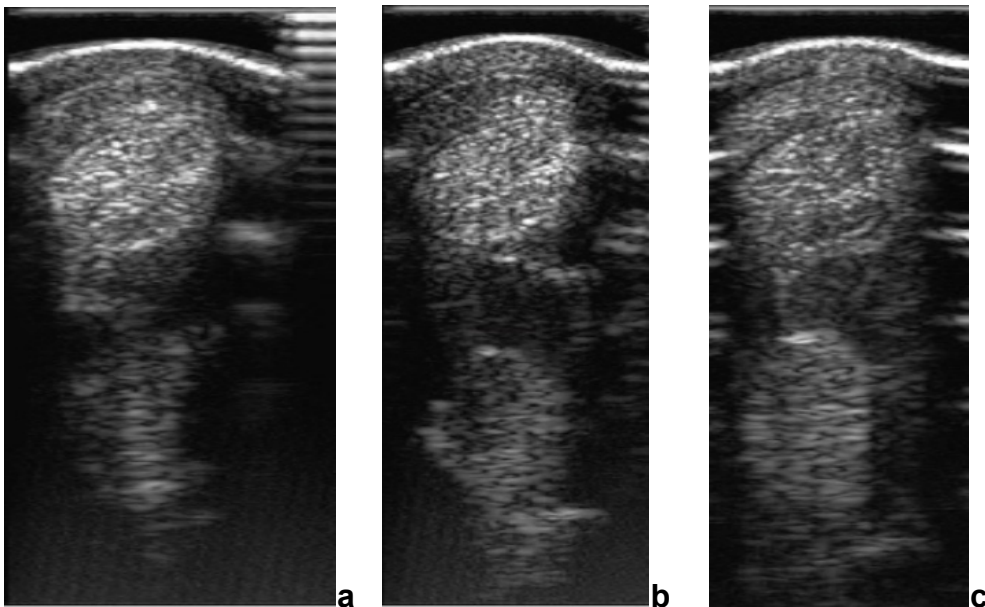
Die 13-jährige Holsteiner-Stute hatte 4 Monate zuvor einen Fesselträgerschaden, der gut verheilte. Vor 3 Wochen zeigte das Pferd wieder eine Lahmheit auf dem betroffenen Bein und eine Pferdeklinik stellte eine erneute Veränderung im M.interosseus medius fest. Bei der ersten Vorstellung ging das Pferd undeutlich geringgradig hinten rechts lahm, auf weichem deutlicher als auf hartem Boden.





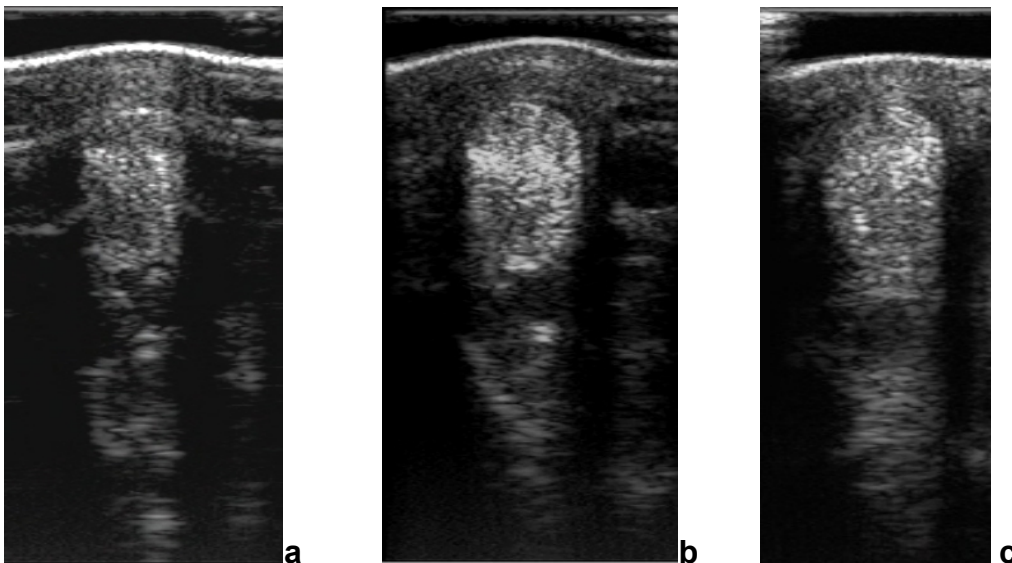
**Abb.50: Sonogramme des lateralen Fesselträgerschenkels im Längsschall zu allen 3 Untersuchungszeitpunkten**

- a) Der Schenkel des M.interosseus medius ist verdickt und zeigt eine diffus aufgelockerte, inhomogene Struktur.
- b) Nach 6 Wochen weist der laterale Schenkel eine etwas dichtere Struktur auf, die noch leicht unregelmäßig ist. Die Umfangsvermehrung ist noch zu beobachten.
- c) Nach insgesamt 12 Wochen stellt sich der laterale Schenkel im Ultraschall sehr dicht dar. Es sind hyperechogene Bereiche zu erkennen. Insgesamt fällt noch eine unregelmäßige Struktur auf. Der Schenkel ist von echogenem Gewebe umgeben.



**Abb.51: Der laterale Schenkel des M.interosseus medius der rechten Hintergliedmaße im Querschall zum Zeitpunkt 0, 6 und 12 Wochen nach Behandlung**

- a) Der laterale Fesselträgerschenkel zeigt eine unscharfe Kontur und eine deutlich reduzierte Echogenität. Die Struktur ist diffus aufgelockert und unregelmäßig.
- b) Der laterale Schenkel ist schärfer konturiert und von seiner Umgebung abgrenzbar. Er zeigt einen randständigen Bereich mit reduzierter Echogenität.
- c) Nach insgesamt 12 Wochen ist der laterale Schenkel echogener und homogener. Die Struktur ist noch leicht unregelmäßig. Es ist ein fokaler hyperechogener Bezirk zu erkennen. Der Schenkel ist deutlich von echogenem Gewebe umgeben.



**Abb.52: Der laterale Schenkel der rechten Hintergliedmaße in Schrägprojektion zu allen 3 Untersuchungszeitpunkten**

- a) Der Schenkel ist unscharf begrenzt und zeigt eine sehr inhomogene Struktur. Diese ist stark aufgelockert. Es stellen sich dichtere Bereiche neben hypoechogenen Bereichen dar.
- b) Nach 6 Wochen sind die oben beschriebenen aufgelockerten und hypoechogenen Bereiche immer noch deutlich auszumachen, stellen sich aber etwas echogener dar. Das restliche Gewebe des lateralen Schenkels erscheint stark echogen und sehr dicht.
- c) Nach insgesamt 12 Wochen ist der Schenkel abgrenzbar und erscheint insgesamt etwas dichter. Die Struktur erscheint noch unregelmäßig. Es sind noch Bereiche mit erhöhter Echogenität auszumachen. Subkutan ist echogenes Material darzustellen.

#### 4.5.5 Ultraschall-Score

Im Sonogramm wurde zu jedem Untersuchungszeitpunkt das Ausmaß der jeweiligen Läsion beurteilt und wie beschrieben in Typ-Klassen eingeteilt.

**Tab.25: Ultraschall-Score in den 3 Gruppen bei Eingangsuntersuchung (t1)**

Behandlungsgruppe	Mittelwert	Standard-abweichung	Median	Minimum	Maximum	N
Gruppe A = Placebo	2,800	,5869	2,500	2,0	4,0	10
Gruppe B = PRP	2,850	,2415	3,000	2,5	3,0	10
Gruppe C = mSC	2,150	,5798	2,000	1,5	3,0	10
Insgesamt	2,600	,5783	2,500	1,5	4,0	30

Bei der Eingangsuntersuchung lag im Gesamtkollektiv im Median eine Läsion des Typs 2,5 vor. Im Einzelnen bedeutet dies, dass in der Gruppe A im Median ein Score von 2,5, in Gruppe B ein Score von 3,0 und in der Gruppe C ein Score von 2,0 vorlag.

**Tab.26: Ultraschall-Score in den 3 Gruppen bei der 1. Nachkontrolle (t2)**

Behandlungsgruppe	Mittelwert	Standard-abweichung	Median	Minimum	Maximum	N
Gruppe A = Placebo	2,050	,6433	2,000	1,0	3,0	10
Gruppe B = PRP	2,000	,4714	2,000	1,5	3,0	10
Gruppe C = mSC	1,700	,6325	1,750	1,0	3,0	10
Insgesamt	1,917	,5884	2,000	1,0	3,0	30

Nach 6 Wochen hat sich die Gruppe A im Median auf eine Läsion des Typs 2,0 verbessert. Die Gruppe B zeigt ebenfalls eine Verbesserung und im Median ein Score von 2,0. In der Gruppe C liegt bei der 1. Nachkontrolle im Median ein Score von 1,75 vor.



**Tab.27: Ultraschall-Score in den 3 Gruppen bei der 2. Nachkontrolle (t3)**

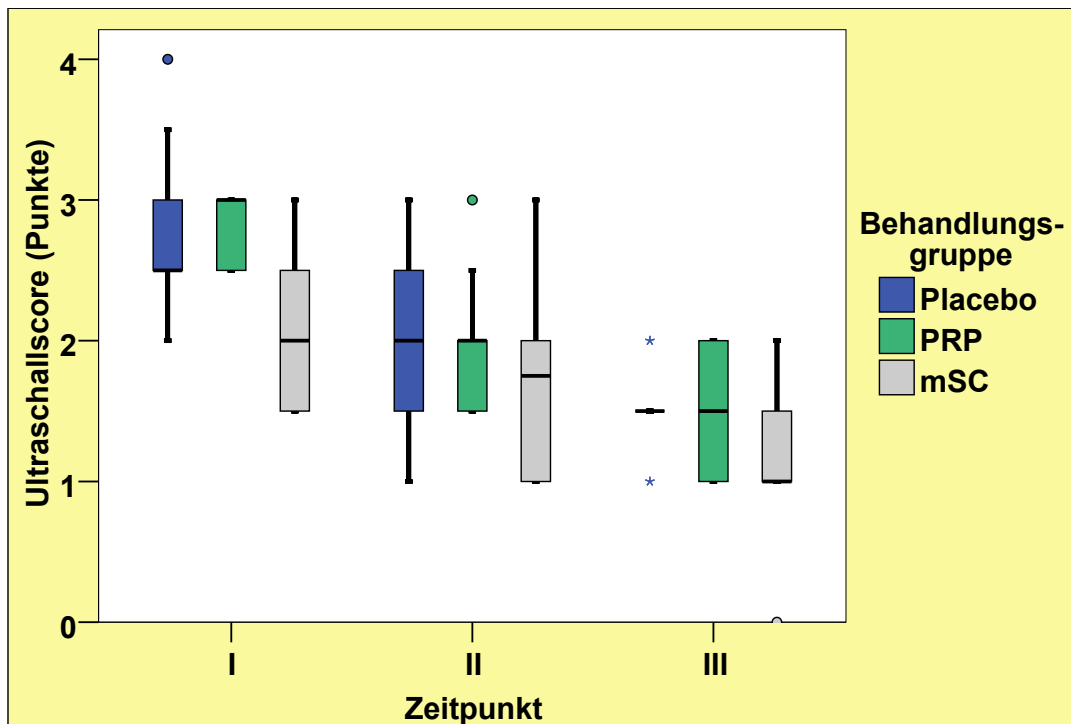
Behandlungsgruppe	Mittelwert	Standard- abweichung	Median	Minimum	Maximum	N
Gruppe A = Placebo	1,500	,3333	1,500	1,0	2,0	10
Gruppe B = PRP	1,450	,4378	1,500	1,0	2,0	10
Gruppe C = mSC	1,150	,5798	1,000	,0	2,0	10
Insgesamt	1,367	,4722	1,500	,0	2,0	30

Bei der 2. Nachuntersuchung liegen im Median in den Gruppen A und B ein Score von 1,5 vor. In der Gruppe C zeigen die Pferde im Median eine Läsion des Typs I.

**Tab.28: Kruskal–Wallis–Test (Gruppenvariabel: Behandlungsgruppe)**

	Ultraschall- Score I	Ultraschall- Score II	Ultraschall- Score III
Asymptotische Signifikanz	<b>,014</b>	<b>,353</b>	<b>,219</b>

Die Tabelle 28 enthält das Ergebnis des *Kruskal–Wallis–Testes* im Vergleich der 3 Behandlungsgruppen hinsichtlich des Ultraschall-Scores.



**Abb.53: Ultraschall-Score in den 3 Gruppen im zeitlichen Verlauf**

Aus der oben dargestellten Abbildung wird deutlich, dass alle Gruppen im Ultraschallbefund über den zeitlichen Verlauf eine Verbesserung zeigen. Es besteht jedoch kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen einer Verbesserung des Ultraschall-Scores und der Behandlungsgruppe.

#### 4.6. Auswertung der Fragebögen

Zur Evaluierung des Heilungsverlaufes wurde 6 Monate nach der ersten Untersuchung an jeden Pferdebesitzer ein Fragebogen verschickt. Dieser diente dazu, den Verlauf des Heilungsprozesses und den momentanen Leistungsstand des Pferdes zu erörtern, und auf diesem Wege möglich aufgetretene Rezidive zu ermitteln.

Von den 30 verschickten Fragebogen kamen 26 Stück ausgefüllt zurück. Dies entspricht einer Rücksendungsquote von 86,7 %.

Insgesamt stufte 19 Pferdebesitzer den Heilungsverlauf ihres Pferdes als sehr gut ein. 10 Pferdehalter bezeichneten ihn als gut und 3 Patientenbesitzer beschrieben den Heilungsverlauf als unverändert. Diese merkten aber hinzu, dass sie nur wenig Hoffnung auf eine Veränderung hatten, da die Erkrankung bei diesen beiden Pferden

schon über Jahre hinweg bestanden. Eines der Pferde hatte bereits vor 10 Jahren eine erste Veränderung im Bereich des M.interosseus medius und anschließend immer wiederkehrende Probleme. Das andere Pferd litt seit 2 Jahren an einer Fesselträgererkrankung.

Nach einer Zeit von 6 Monaten nach Behandlungsbeginn waren von den 26 Pferden insgesamt 21 Pferde lahmfrei. Ein Pferd zeigte noch Taktunreinheiten, vor allem auf weichem Boden und in der Wendung. Während der Bewegung besserte sich der Bewegungsablauf des Pferdes. 3 weitere Besitzer berichteten über eine geringgradige Lahmheit bei ihren Pferden und ein Pferdebesitzer informierte über eine deutliche Lahmheit seines Pferdes. Bei einem Pferd mit einer geringgradigen Lahmheit berichtete die Besitzerin, dass ihr Pferd hinten beidseitig eine Fesselträgerproblematik hat. Zum Zeitpunkt der Befragung zeigte die Stute hinten rechts eine Lahmheit. Aus diesem Grunde ist die Lahmheit laut Aussage der Besitzerin auf dem Studienbein schwer zu beurteilen. Ein weiteres Pferd zeigte zum Befragungszeitpunkt eine geringgradige Lahmheit auf der betroffenen Gliedmaße, die sich mit der Bewegung besserte. Eines der Pferde mit einem oben beschriebenen unveränderten Heilungsverlauf zeigte nach Aussage der Besitzer nach wie vor eine deutliche Lahmheit.

Bei der Befragung über eine bestehende Schwellung im Bereich des Fesselträgers bei dem betroffenen Bein gaben insgesamt 13 Pferdebesitzer an, dass keine Schwellung in diesem Bereich besteht. 8 Patientenbesitzer berichteten über eine leichte Schwellung, 3 über eine mittlere und 2 über eine starke Schwellung.

Insgesamt waren 10 der Pferde auf dem gleichen Leistungsstand wie vor der Erkrankung. 10 Pferde zeigten eine etwas schlechtere und 3 Pferde eine viel schlechtere Leistung im Vergleich. 3 der Pferde waren zum Zeitpunkt der Befragung unreitbar. Hier ist zu erwähnen, dass 2 dieser Pferde aufgrund einer anderen Erkrankung als unreitbar eingestuft wurden. Die Pferdebesitzer berichteten, dass die Fesselträgererkrankung den Pferden keine Probleme bereitet. Lediglich ein Pferd mit dem oben beschriebenen unveränderten Heilungsverlauf und der deutlichen Lahmheit ist aufgrund der Erkrankung am M.interosseus medius unreitbar.

Von den 26 Pferdebesitzern, die an der Befragung mittels Fragebogen teilnahmen, bewerteten 20 ihre Teilnahme an der Studie als sehr gut. 5 Patientenbesitzer stufte

diese als gut ein. Die Besitzerin des Pferdes mit der langen Krankheitsgeschichte und der deutlichen, unveränderten Lahmheit gab eine mittlere Bewertung ab.

Die Verteilung auf die einzelnen Gruppen sieht wie folgt aus:

### Behandlungsgruppe A

In der Behandlungsgruppe A kamen 8 der insgesamt 10 Fragebogen zurück.

**Tab. 29: Auswertung des Fragebogens der Behandlungsgruppe A**

	sehr gut	gut	unverändert	schlecht	sehr schlecht
Heilungsverlauf	2	5	1	0	0
	keine	taktunrein	gering	mittel-gradig	deutlich
LH auf der betroffenen Gliedmaße	6	0	2	0	0
	keine	leicht	mittel	stark	sehr stark
Schwellung	4	3	1	0	0
	gleich	etwas schlechter	viel schlechter	unreitbar	Euthanasie
Leistungsniveau	1	3	3	1	0
	sehr gut	gut	mittel	schlecht	sehr schlecht
Studienteilnahme	5	3	0	0	0

In der Behandlungsgruppe A beschrieben 2 Pferdebesitzer den Heilungsverlauf ihrer Pferde als sehr gut, 5 weitere als gut und einer als unverändert. Nach 6 Monaten waren von den 8 Pferden 6 frei von Lahmheit. Zwei Pferde zeigten zum Befragungszeitpunkt eine geringgradige Lahmheit auf der betroffenen Gliedmaße.

Eine Pferdebesitzerin gab an, dass sich einerseits während der Bewegung eine Besserung der Lahmheit zeigte, andererseits auch eine positive Entwicklung seit der letzten Kontrolluntersuchung zu verzeichnen war.

Im weiteren Kontakt mit der Besitzerin berichtete diese, dass ihr Pferd weitere 3 Monate später, das bedeutet 9 Monate nach Studieneintritt, lahmfrei und voll einsatzfähig war. Dieser Zustand hielt insgesamt 3 Monate an. Danach trat eine Verschlechterung ein und das Pferd zeigte wieder eine geringgradige Lahmheit. Insgesamt 12 Monate nach Studienbeginn ist das Pferd wieder in einer Pferdeklinik in Behandlung.

Bei der Befragung gaben 4 Pferdebesitzer an, dass die Pferde im Bereich des Fesselträgers keine Schwellung aufweisen. 3 weitere berichteten über eine leichte und 1 Besitzer über eine mittlere Schwellung.

Ein Pferd befand sich nach 6 Monaten wieder auf dem gleichen Leistungsniveau wie vor der Erkrankung. 3 Pferde zeigten eine etwas schlechtere Leistung. 3 weitere Pferde waren zu diesem Zeitpunkt auf einem viel schlechteren Leistungsniveau und ein Pferd wurde als unreitbar eingestuft. Hier ist aber festzuhalten, dass das Pferd aufgrund einer Verletzung am Unterstützungsband der tiefen Beugesehne nicht geritten werden konnte.

5 Pferdehalter bewerteten ihre Teilnahme an der Studie als sehr gut und 3 Besitzer als gut.

**Behandlungsgruppe B**

In dieser Behandlungsgruppe wurde ein Fragebogen nicht zurückgeschickt. Demnach lagen hier 9 Fragebogen zur Auswertung vor.

**Tab. 30: Auswertung des Fragebogens der Behandlungsgruppe B**

	sehr gut	gut	unverändert	schlecht	sehr schlecht
Heilungsverlauf	6	2	1	0	0
	keine	taktunrein	gering	mittel-gradig	deutlich
LH auf der betroffenen Gliedmaße	8	1	0	0	0
	keine	leicht	mittel	stark	sehr stark
Schwellung	4	3	1	1	0
	gleich	etwas schlechter	viel schlechter	unreitbar	Euthanasie
Leistungsniveau	4	5	0	0	0
	sehr gut	gut	mittel	schlecht	sehr schlecht
Studienteilnahme	8	1	0	0	0

Den Heilungsverlauf ihres Pferdes stufen in dieser Gruppe 6 Besitzer als sehr gut ein. Zwei Pferdebesitzer beschrieben ihn als gut und einer als unverändert. Das Pferd mit dem abgegebenen unveränderten Heilungsverlauf hatte mit 6 Jahren eine erste Veränderung am M.interosseus, und wie oben beschrieben, seitdem immer wiederkehrende Probleme in diesem Bereich. Dieses Pferd war auf dem betroffenen Bein nach 6 Monaten noch taktunrein. Dies zeigte das Pferd vor allem auf weichem Boden und in der Wendung. Im Laufe der Bewegung besserte sich die Taktunreinheit. Alle anderen Pferde, von deren Besitzern der Fragebogen zurückgesandt wurde, waren nach 6 Monaten lahmfrei.

Bei der Befragung über eine Schwellung im Bereich des Fesselträgers gaben 4 Besitzer an, dass in diesem Bereich keine Schwellung zu beobachten ist. 3 Pferde zeigten eine leichte und ein Pferd eine mittlere Schwellung. Das Pferd mit der Taktunreinheit und dem unveränderten Heilungsverlauf zeigte laut Angabe der Besitzerin eine starke Schwellung.

Nach 6 Monaten waren 4 Pferde wieder auf dem gleichen Leistungsniveau wie vor der Erkrankung. Die anderen 5 an der Umfrage beteiligten Pferde zeigten im Vergleich einen etwas schlechteren Leistungsstand.

8 der Pferdebesitzer bewerteten ihre Teilnahme an der Studie als sehr gut und ein Besitzer als gut.

### Behandlungsgruppe C

In Gruppe C lagen ebenfalls 9 Fragebogen zur Auswertung vor.

**Tab. 31: Auswertung des Fragebogens der Behandlungsgruppe C**

	sehr gut	gut	unverändert	schlecht	sehr schlecht
Heilungsverlauf	5	3	1	0	0
	keine	taktunrein	gering	mittel-gradig	deutlich
LH auf der betroffenen Gliedmaße	7	0	1	0	1
	keine	leicht	mittel	stark	sehr stark
Schwellung	5	2	1	1	0
	gleich	etwas schlechter	viel schlechter	unreitbar	Euthanasie
Leistungsniveau	5	2	0	2	0
	sehr gut	gut	mittel	schlecht	sehr schlecht
Studienteilnahme	7	1	1	0	0

Hier beurteilten von den befragten Pferdebesitzern 5 den Heilungsverlauf als sehr gut und 3 als gut. Eine Pferdebesitzerin stufte den Verlauf mittel ein. Sie gab aber weiterhin an, dass ihr Pferd bereits seit 2 Jahren an einer Fesselträger-Erkrankung leidet. Dieses Pferd zeigte zum Zeitpunkt der Befragung eine deutliche Lahmheit. Ein weiteres Pferd zeigte eine geringgradige Lahmheit. Hier berichtete die Besitzerin, dass ihr Pferd hinten beidseitig eine Fesselträgerproblematik hat. Zum Zeitpunkt der Befragung zeigte die Stute hinten rechts eine Lahmheit. Aus diesem Grunde ist die Lahmheit laut Aussage der Besitzerin auf dem Studienbein, dem linken Hinterbein, schwer zu beurteilen.

Weiterhin gaben 5 Pferdebesitzer an, dass bei ihren Pferden im Bereich des Fesselträgers keine Schwellung zu verzeichnen ist. Hingegen lag bei 2 Pferden eine leichte, bei einem Pferd eine mittlere und bei einem weiteren Pferd eine starke Schwellung vor.

Von den vorliegenden Fällen waren 5 Pferde wieder auf dem gleichen Leistungsniveau wie vor der Erkrankung. 2 Pferde zeigten im Vergleich eine etwas schlechtere Leistung. 2 weitere Pferde wurden als unreitbar beurteilt. Eines dieser Pferde ist aufgrund einer Problematik im Halswirbelbereich unreitbar. Die Besitzer gaben an, dass die Veränderung im Bereich des M. interosseus medius dem Pferd zum Befragungszeitpunkt keine Probleme bereitete.

Die Besitzerin des oben beschriebenen Pferdes mit der deutlichen Lahmheit und der längeren Krankengeschichte gab an, dass ihr Pferd aufgrund der Fesselträgererkrankung nicht mehr reitbar ist und auf der Wiese steht. Sie berichtete, dass sie aufgrund dieser Tatsache die Studienteilnahme mittel bewertet.

Die restlichen Pferdebesitzer beurteilten die Studienteilnahme als sehr gut bzw. gut.



## 5. Diskussion

### 5.1. Zielsetzung

Inzwischen gibt es viele Versuchsansätze zum therapeutischen Einsatz von MSC. Allerdings fehlten in einem Großteil der Studien Kontrollgruppen. Im Hinblick auf einen routinemäßigen Einsatz von MSC und anderen regenerativen Therapiemöglichkeiten in der Pferdemedizin steht eine starke Forderung nach kontrollierten Studien mit Kontrollgruppen im Raum (Taylor et al. 2007, Goletz 2009, Koch et al. 2009). Darüber hinaus wurde die überwiegende Zahl der Studien über den klinischen Einsatz von MSC bei Sehnenschäden beim Pferd an der oberflächlichen Beugesehne durchgeführt (Smith et al. 2003, Crovace et al. 2007, Smith 2008, Lactignola et al. 2008, Guest et al. 2008, Schnabel et al. 2009). Ganser (1999) konnte nachweisen, dass der M. interosseus medius nach der oberflächlichen Beugesehne bei Warmblutpferden am zweithäufigsten von Schädigungen betroffen ist, die sonographisch darstellbar sind. Rapp (1997) gibt an, dass der M. interosseus medius bei auftretenden Tendopathien mit 36% die am häufigsten betroffene Struktur ist. Dies zeigt die Notwendigkeit, neue regenerative Therapiekonzepte auch an dieser Struktur der distalen Gliedmaße des Pferdes zu untersuchen und die Effekte zu demonstrieren.

Aus diesem Grund hatte die vorliegende Arbeit das Ziel, das Heilungsverhalten des M. interosseus medius des Pferdes unter dem Einfluss von equinen MSC sowie PRP klinisch und sonographisch zu untersuchen und anhand einer Kontrollgruppe zu vergleichen. Die Vermutungen der Forscher, dass der M. interosseus medius nach Verabreichung von MSC ein verbessertes Heilungsverhalten hinsichtlich einer Regeneration des geschädigten Gewebes zeigt, sollten im Rahmen dieser Studie überprüft werden.

Ein weiterer Gegenstand der Untersuchung war, eine mögliche Übertragung von allogenen MSC zu überprüfen. In der Humanmedizin werden allogene MSC bereits ohne Probleme eingesetzt (Copelan 2006, Koch et al. 2008, Koch et al. 2009, Giebel et al. 2009). Da die Verwendung von allogenen MSC bei der Behandlung von Sehnenschäden beim Pferd einige Vorteile mit sich bringt, war ein weiteres Ziel

dieser Studie diese Möglichkeit sowie die Verträglichkeit im Rahmen der Heilung des M. interosseus medius zu untersuchen.

## **5.2. Kritik der Methode**

### **5.2.1. Patientengut**

Die Auswahl des Pferdmaterials sollte so wenig wie möglich auf bestimmte Merkmale hin vorselektiert werden. Aus diesem Grunde bestanden keine Auswahlkriterien bezüglich der Rasse, des Alters, des Geschlechtes oder der Nutzungsart. Bei den Pferden wurde eine Desmitis des M. interosseus medius durch den Haustierarzt mit Hilfe einer Lahmheitsuntersuchung, Leitungsanästhesien und sonographischer Untersuchung vordiagnostiziert. Mit dieser feststehenden Diagnose wurden die Pferde in die Studie aufgenommen. Die Voraussetzungen sollten denen einer Überweisungsklinik, die Pferde zur „Stammzellbehandlung“ oder Anwendung ähnlicher Therapien überwiesen bekommen, gleichen. Literatur um die Verwendung von MSC bei Pferden ist auf klinische Erfahrung alleine fokussiert (Smith et al. 2003, Herthel et al. 2003, Mountford et al. 2006, Smith et al. 2008) oder die Informationen sind auf Labortiermodelle gestützt (Crovace et al. 2007, Crovace et al. 2008, Guest et al. 2008, Schnabel et al. 2009). Diese kollagenaseinduzierten (Crovace et al. 2007, Schnabel et al. 2009) oder chirurgisch hergeleiteten Sehnenschäden (Guest et al. 2008, Bosch et al. 2010) gleichen nicht den klinischen orthopädischen Überbelastungsschäden. Das beste Modell einer Erkrankung ist daher die natürlich entstandene Verletzung in einer gut entworfenen kontrollierten Studie. Die Auswahl der Pferdegruppe sollte diesen Anspruch erfüllen.

### **5.2.2. Klinische Untersuchung**

Die klinische Untersuchung der Pferde sowie die Einteilung der Lahmheitsgrade erfolgte nach dem Lahmheitsprotokoll nach Adams (Stashak 1989). Trotz des vorgegebenen Untersuchungs- und Einteilungsschemas der Lahmheitsgrade bleibt die Gefahr des subjektiven Einflusses bestehen.

### 5.2.3. Sonographische Untersuchung

Für die Sonographie des M. interosseus medius wurde ein 7,5 MHz Schallkopf verwendet, der auch von anderen Autoren als geeignet für diese Art der Untersuchung eingestuft wird (Genovese et al. 1986, Dyson 1991, Dyson 1994, Denoix 1994, Dyson et al. 1995, Rapp 1997). Rantanen (1993) sieht in diesen Schallköpfen die effektivsten zur Darstellung des M. interosseus medius. Dass die Vorbereitung der Gliedmaße vor der Ultraschalluntersuchung von enormer Wichtigkeit für eine gute Qualität der Bilder ist, bestätigten alle genannten Autoren. In der vorliegenden Arbeit wurden die Gliedmaßen entsprechend geschoren, mit Wasser gereinigt und anschließend mit Ultraschallkontaktgel einmassiert. Dieses Vorgehen lieferte qualitativ gute Bilder.

Die Verwendung einer Vorlaufstrecke wird von den Autoren unterschiedlich diskutiert. Dyson et al. (1995) und Schwarzkopf (2000) empfehlen für tiefer gelegene Strukturen, wie den Körper des M. interosseus medius, eine Untersuchung ohne Vorlaufstrecke. Denoix (1994) zieht es vor, mit Vorlaufstrecke zu arbeiten. Die Verwendung einer Vorlaufstrecke bietet neben der genaueren Fokussierung auch einen besseren Kontakt des Schallkopfes zur Hautoberfläche. Aufgrund der beobachteten besseren Bildqualität wurden alle sonographischen Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit mit Vorlaufstrecke durchgeführt.

Zur genauen Kennzeichnung und Dokumentation der Läsion wurde die distale Gliedmaße, orientierend an der Einteilung von Genovese et al. (1986), in Zonen eingeteilt. Die Bezeichnung der Zonen, unterteilt nach A und B, wurde modifiziert und zur besseren Auswertung durchgehend nummeriert. Da das Hinterbein eine größere Länge aufweist, wird am Metatarsus von Genovese et al. (1986) eine zusätzliche Zone eingeführt. Die vorliegende Arbeit beschränkt sich ausschließlich auf den M. interosseus medius. Aus diesem Grund wurde auf die zusätzliche Zone verzichtet, da sie die relevante Struktur nicht enthält. So besteht die modifizierte Einteilung an der Vorder- und Hintergliedmaße aus jeweils 6 Zonen, durchgehend von 1 bis 6 nummeriert.

Die vorgeschlagene Einteilung und Klassifizierung der Strukturdefekte anhand ihrer Echogenität in fünf Typen von McClellan (1986) und Genovese et al. (1986) hat sich durchgesetzt. Trotz der Schematisierung bleibt auch hier ein subjektiver Aspekt erhalten. Scorewerte sind keine Mess- oder Zählwerte, sondern Einschätzungen, die

in gewisser Hinsicht subjektiv sind. Aufgrund der menschlichen Beurteilung sind komplett objektive Ergebnisse schwierig. Dazu müssten die Läsionen ausgemessen werden. Pathologische Veränderungen des M. interosseus medius sind allerdings sehr komplex (Dyson 1991, Dyson 1994, Dyson et al. 1995, Dyson et al. 2002, Dyson 2003) und können nicht, wie beispielsweise Core lesions der Beugesehnen, ausgemessen werden. Trotz gleichbleibender Beurteilung bleibt der subjektive Faktor zu berücksichtigen.

#### **5.2.4. Biopstatentnahme**

Nach einer Verletzung des M. interosseus medius heilt dieser oft nur unter Bildung eines strukturell und biomechanisch minderwertigen Gewebes (Smith 2002). Der Körper füllt den Defekt mit Narbengewebe auf, das dann hauptsächlich aus dem sogenannten Kollagen III besteht (Williams et al. 1984b, Oberbeck 1992, Goodship et al. 1994, Becker et al. 2001). Dieses Narbengewebe ist aber weniger elastisch und weniger stabil als das ursprüngliche Gewebe (Smith 2002). Die Abheilung geht also mit einer FunktionseinbuÙe einher und ist oft der Grund für ein erneutes Auftreten der Erkrankung.

Unter dem Elektronenmikroskop kann der Fibrillendurchmesser beurteilt werden. So ist eine Unterscheidung von dicken Kollagentyp-I-Fasern und Kollagentyp-III-Fasern möglich (Oberbeck 1992, Goodship et al. 1994, Rühmann 1999, Becker et al. 2001, Buck 2003). Auf Grund dessen war ein weiteres Ziel dieser Studie, Biopsien aus dem M. interosseus medius zu gewinnen und diese in einer Folgearbeit elektronenmikroskopisch auf ihre Ultrastruktur zu untersuchen. Mit Hilfe der rasterelektronenmikroskopischen Biopsieuntersuchung sollen Erkenntnisse darüber gewonnen werden, ob es in Folge einer Behandlung mit MSC, im Rahmen des Heilungsprozesses im M. interosseus medius, zu einer Auffüllung des Defektes mit Kollagen-Typ I kommt.

Obwohl die Entnahme von Sehngewebe des Pferdes nicht so etabliert ist wie bei vielen anderen Organen, zeigten einige Studien die Durchführbarkeit sowie Unbedenklichkeit der Biopsie (Rühmann 1999, Wagels 2000, Buck 2003). Die von Wagels (2000) erarbeitete Methode der Biopsie erlaubt am stehenden Pferd die Gewinnung eines zentralen Gewebezylinders aus den Beugesehnen des Pferdes.

Die entstandene Läsion hat nach den bisherigen Erkenntnissen keinen Einfluss auf die spätere Zugfestigkeit der Sehne und ist in dieser zu keinem Zeitpunkt sonographisch nachweisbar. Auch histologisch wurde es in einem größeren Abstand nach der Biopsie schwierig, die Biopsiestelle in der Sehne zu finden (Wagels 2000). Ein weiterer wichtiger Punkt ist die Auswertbarkeit der Biopate. Rühmann (1999) untersuchte auf diesen Gesichtspunkt hin 58 Gewebeproben aus Pferde-Beugesehnen. Histologisch und elektronenmikroskopisch konnte eine gute Strukturhaltung und Auswertbarkeit der Proben beobachtet werden. Buck (2003) bewertete die rasterelektronenmikroskopische Biopsieuntersuchung als eine sinnvolle Ergänzung zu den bisherigen klinischen und sonographischen Diagnosemöglichkeiten verschiedener Tendopathiestadien.

Obgleich die oben genannten Untersuchungen an den Beugesehnen des Pferdes durchgeführt wurden, bestand keine Unsicherheit, dass diese Methode der Biopotentnahme auf die Entnahme von Gewebeproben des M. interosseus medius übertragen werden konnte. Wagels (2000) äußerte zwar - aufgrund der nahen anatomischen Lage des M. interosseus medius zu größeren Blutgefäßen (A. und V. digitalis palmaris bzw. plantaris communis) - Zweifel über diese Möglichkeit. Diese Studie zeigte aber die unbedenkliche Durchführbarkeit der Übertragung der Methodik. Sicherlich ist eine gute anatomische Kenntnis dieses Bereiches für eine gefahrlose Entnahme erforderlich. Aber diese sollte auch bei einer Entnahme aus dem Beugesehnenbereich Voraussetzung sein. Lediglich durch eine Abwehrbewegung des Pferdes und durch unkontrollierte Bewegungen mit der Biopsienadel können umliegende Strukturen bei sonst sachgemäßer Anwendung des Biopotentnahmegerätes verletzt werden. Zur Minimierung dieses Risikos waren die Pferde mit dem Wirkstoff Detomidinhydrochlorid in der Dosierung 0,01mg/kg Körpergewicht sediert. Zusätzlich wurden im Bereich der Biopsieentnahmestelle 2ml Lokalanästhetikum unter die Haut gesetzt. In wenigen Fällen war für die Entnahme eine zusätzliche Ruhigstellung des Patienten durch Fixation mit einer Oberlippennasenbremse notwendig. Die Pferde ließen die Prozedur aber ohne Probleme über sich ergehen. Auch in dieser Studie waren, wie bei Rühmann (1999), Wagels (2000), Buck (2003), die Blutungen im Anschluss an die Biopotentnahme geringgradig und durch verletzte Hautgefäße verursacht.

Die hier verwendete Biopsienadel der Firma „Dispomed Witt oHG“ zeichnete sich durch eine einfache und sichere Handhabung aus. Jedoch bleibt ein grundsätzliches

Problem der Biopsietechnik, dass durch Abbiegen der Nadel nicht repräsentatives Gewebe gewonnen wird. In den Untersuchungen von Rühmann (1999) konnte die gewünschte Sehne nicht immer getroffen werden. 11 der 58 gewonnenen Proben enthielten Haut und Unterhaut. Über die Auswertbarkeit der in dieser Studie gewonnen Gewebeproben kann erst nach den noch ausstehenden Untersuchungen eine Aussage getroffen werden.

#### **5.2.5. Placebo**

Vielen Studien, die sich mit der Anwendung von regenerativen Therapiemaßnahmen bei Band- und Sehnenverletzungen bei Pferden beschäftigen, fehlt eine Kontrollgruppe zur Überprüfung ihrer Ergebnisse (Smith et al. 2003, Herthel et al. 2003, Rosenbrock et al. 2004, Smith et al. 2008, Waselau et al. 2008, Argüelles et al. 2008). Ohne Kontrollgruppe kann jedoch keine Aussage darüber gemacht werden, ob eine Besserung mit der angewandten Substanz in Zusammenhang zu bringen ist. Nur selten werden die Rohdaten der Studien veröffentlicht. Der Leser kann also nicht beurteilen, ob die Schlussfolgerungen des Autorenteam aufgrund der erhobenen Daten richtig sind. Fehler, die hier Probleme bereiten können, sind vor allem oft das Fehlen einer passenden Kontrollgruppe. In der Gesamtheit führen solche Fehler zu einer Verzerrung der Daten zugunsten der untersuchten Therapie. Studien ohne Vergleichsgruppen, in denen ein Vorher-Nachher-Vergleich durchgeführt wird, sind zwar einfach in ihrem Aufbau, allerdings ist die Aussagekraft solcher Studien gering. Koch et al. (2009) sehen das Fehlen von Daten guter, kontrollierter Studien in dem Widerstreben der Pferdebesitzer, dass ihr wertvolles Pferd in eine Kontrollgruppe mit Placebobehandlung eingetragen werden könnte. Im Rahmen dieser Studie kann festgehalten werden, dass diese Befürchtung kein Problem darstellte. Eine ausführliche Aufklärung der Pferdebesitzer ist natürlich sehr wichtig. Selbstverständlich hoffen die Besitzer darauf, dass ihr Pferd in eine der Behandlungsgruppen gelost wird. Aber sie sind sich bei Eintritt in die Studie darüber bewusst, dass auch die Möglichkeit der Placebobehandlung besteht. Die Pferdebesitzer waren durchweg zufrieden – auch wenn sich am Ende der Studie herausstellte, dass ihr Pferd in der Placebogruppe war. Diese Studie zeigt demnach, dass es durchaus, auch ohne die Verwendung von speziellen Versuchspferden, möglich ist, Kontrollgruppen mit Placeboapplikation in die Studie aufzunehmen.

Einige Arbeiten mit Labortieren haben Kontrolluntersuchungen mit Applikation eines Placebos durchgeführt (Crovace et al. 2007, Lactignola et al. 2008, Schnabel et al. 2009, Bosch et al. 2010). In diesen Fällen wurde als Placebo Kochsalzlösung verwendet. In der Vorbereitung dieser Studie bestand die Auffassung, dass sich Kochsalzlösung nicht als Placebo eignet. Bisher konnte nicht abschließend geklärt werden, welche Auswirkungen Kochsalzlösung auf die Sehnenfasern hat. So bleibt auch die Frage offen, welchen Effekt die Einspritzung von Kochsalzlösung in kollagenaseinduzierte Sehnenschäden hat. Infolgedessen fiel die Wahl als Placebo auf das Stammzellmedium DMEM. Bei diesem Medium handelt es sich um standardisiertes Nährmedium mit breiter Verwendbarkeit für verschiedene tierische Zellen. Hier wurde von der Annahme ausgegangen, dass es für die Sehnenzellen unschädlich ist. Hingegen bleibt hier unklar, ob und welche Rolle das Nährmedium im Rahmen des Heilungsprozesses spielt. So wäre denkbar, dass es die Zellen durch Bereitstellung von Nährstoffen in diesem Zusammenhang unterstützt und anregt. Im Vordergrund bei der Wahl des Placebos standen aber die Unbedenklichkeit und annehmbare Unschädlichkeit.

#### **5.2.6. Platelet Rich Plasma**

PRP erhält seit einigen Jahren mehr und mehr Einzug in die Pferdemedizin - hier unter anderem auch im Rahmen der Band- und Sehnenheilung. Bisher gelaufene Untersuchungen lieferten in dieser Hinsicht vielversprechende Ansätze (Murphy et al. 1997, Schnabel et al. 2006, Smith et al. 2006, Waselau et al. 2008, Argüelles et al. 2008, Bosch et al. 2010). Daher schien ein Vergleich dieser neuen regenerativen Therapiemaßnahmen im Rahmen dieser Studie sinnvoll.

Zur Herstellung von autologen Thrombozytenkonzentrat aus dem entnommenen Pferdeblut wurde ein von der Firma „Harvest Technologies®“ entwickeltes Set „SmartPReP2® APC-20+ Procedure Pack“ zum Einmalgebrauch verwendet. Das Set beinhaltet alle notwendigen Materialien. Mit Hilfe einer verständlichen, ausführlichen Beschreibung und aufgrund eines Schlüssel-Schloss-Prinzips, ist dieses System sehr einfach und unkompliziert in der Handhabung. Die Anwendung war schnell und sicher. Dadurch ist die Verwendung dieses Systems sehr praktikabel. Es muss allerdings beachtet werden, dass nach Herstellung des Konzentrates eine zügige Applikation zu erfolgen hat. So kann während des 20-

minütigen Herstellungsprozesses das Pferd vorbereitet werden und anschließend direkt unter sterilen Bedingungen eine Injektion des frisch zubereiteten PRP in die Läsion erfolgen.

Mit dem im Rahmen der Studie verwendeten Set „SmartPReP2® APC-20+ Procedure Pack“ von der Firma „Harvest Technologies®“ zur Herstellung von autologen Thrombozytenkonzentrat ist laut Herstellerangaben eine Konzentrationsfähigkeit von  $65 \pm 9 \%$  zu erreichen. Es wird eine Thrombozytenkonzentration im PRP von  $1.083.000 \pm 233.000 / \mu\text{l}$  angegeben. Mit der Aufbereitung des Vollblutes kann so eine  $4,4 \pm 0,6$  fache Konzentration der Thrombozyten erfolgen. Waselau et al. (2008) arbeiteten in ihrer Studie mit einer durchschnittlichen Thrombozytenkonzentration von  $1.370.000 \pm 11.100 / \mu\text{l}$  PRP. Schnabel et al. (2007) verwendeten zur Gewinnung des PRP ebenfalls das „SmartPReP2®“ der Firma „Harvest Technologies®“. Hier lag der durchschnittliche Thrombozytengehalt im PRP 3,77-fach höher als im Vollblut. Aufgrund der angegebenen Konzentrationsangaben bzw. der Verwendung des gleichen Herstellungssets ist ein Vergleich der Studien möglich.

### 5.2.7. Allogene MSC

Das Akronym MSC bezieht sich, wie bereits beschrieben, in der Literatur auf *mesenchymale Stammzelle*, *mesenchymale Stromazelle* oder auch *Stromastammzelle*. Die *International Society for Cellular Therapy* hat den Begriff MSC besprochen und den generellen Begriff der *multipotenten mesenchymalen Stromazelle* eingeführt (Horowitz et al. 2005). In der Humanmedizin wird dieser Begriff nun weitestgehend verwendet. In der tiermedizinischen Fachliteratur wird aber hauptsächlich der Begriff „mesenchymale Stammzelle“ verwendet (Herthel 2001, Herthel 2003, Smith et al. 2003, Mountford et al. 2006, Taylor et al. 2007, Del Bue et al. 2008, Koch et al. 2008, Schnabel et al. 2009, Colleoni et al. 2009). Der Terminus *Stamm-* kann aber möglicherweise auf mehr biologische und funktionale Eigenschaften schließen lassen, als die Zellen in Wirklichkeit haben. Dies kann vor allem in der Laienliteratur zu unrealistischen Vorstellungen führen. So werden Pferdebesitzer bei der Beratung der möglichen Therapien für ihr Pferd unter Umständen in die Irre geleitet und erlangen falsche Erwartungen an eine durch den Tierarzt propagierte „Stammzelltherapie“. Die Kontroverse in der Literatur zeigen,



dass ein bewusster Umgang mit dem Begriff MSC notwendig ist und eine präzise Definition dieser Zellpopulation einen gültigen Vergleich von Untersuchungsergebnissen verschiedener Studien erlauben wird. So ist zu bedenken, dass innerhalb des Knochenmarks drei wesentliche zelluläre Systeme existieren, die nach heutiger Erkenntnis keinen gemeinsamen Vorläufer im postnatalen Individuum besitzen. Dazu gehören das hämatopoetische, das endotheliale und das Stromazellsystem. Dabei werden die MSC zum Stromazellsystem gezählt. Zurzeit stellt das Knochenmarkaspirat die ergiebigste Quelle für MSC dar.

Die Methodik zur Isolierung, Charakterisierung und Kultivierung von equinen MSC ist bereits gut etabliert (Fortier et al. 1998, Arnhold et al. 2007, Goletz 2009, Colleoni et al. 2009) und wird in einigen Laboren als Dienstleistung angeboten. Die im Rahmen der vorliegenden Studie verwendeten equinen MSC zeigten die in der Literatur beschriebenen Charakteristika (Fortier et al. 1998, Arnhold et al. 2007, Goletz 2009, Colleoni et al. 2009). So konnte die Fähigkeit zur Proliferation sowie das Differenzierungspotential in osteogene, adipogene und chondrogene Zelllinien demonstriert werden. Der überwiegende Teil der Zellpopulation zeigte eine hohe Positivität für MHC I, CD90 und CD105 und Negativität für die hämatopoetischen Marker CD45 und CD14. Dies sind die Kriterien, die an eine reine MSC-Population angelegt werden (Dominici et al. 2006). Damit wurde außerdem dargestellt, dass equine MSC die gleichen Oberflächenantigene exprimieren wie humane MSC (Lange et al. 2007).

Pferdesehnenverletzungen werden bereits in einer Zahl von Kliniken mit autologen MSC aus dem Knochenmark behandelt. Den Pferden, bei denen eine solche Therapie angewendet werden soll, wird das Knochenmark in der Regel aus dem Brustbein entnommen. Die Entnahme aus dem Beckenkamm ist nur bei jungen Pferden möglich (Ionita 2010). Die Punktion des Brustbeins geschieht entweder in Vollnarkose oder unter Sedation und Lokalanästhesie am stehenden Pferd. Diese Prozedur zur Gewinnung der MSC stellt für das Pferd einen invasiven Eingriff dar, der Risiken birgt. Zum einen sind dies die allgemein bekannten Risiken einer Vollnarkose. Beim Eingriff am stehenden Pferd müssen noch höhere Risiken in Kauf genommen werden. Aufgrund der nahen anatomischen Lage zum Herzbeutel kann es durch mögliche Abwehrreaktionen des Pferdes zu einem Abrutschen der Punktionskanüle kommen, was lebensbedrohliche Folgen haben kann (Durando et

al. 2006). Darüber hinaus ist solch eine aufwendige Behandlung mit hohen Kosten um die 1000 bis 1500 Euro verbunden. Ein weiterer Nachteil ist die zeitliche Verzögerung zwischen Diagnose und Behandlung. So vergehen während des Wartens auf die Isolation, Charakterisierung und Vermehrung der eigenen Zellen 2 – 4 Wochen. Eine vorstellbare Behandlung mit allogenen Zellen beinhaltet einige Vorteile. Die schmerzhaft und invasive Entnahmeprozedur könnte umgangen werden. Da oft Sportpferde mit einem hohen Wert „berufsbedingt“ an Band- und Sehnenverletzungen leiden, könnte bei diesen Pferden das Risiko der Entnahme umgangen werden. Dadurch wäre die Behandlung pferde- und besitzerfreundlicher. Zudem wäre eine zeitnahe Behandlung der Läsion möglich. Der Hintergedanke ist eine sofortige Verfügbarkeit allogener, in ihrem Proliferations- und Differenzierungspotential gut charakterisierter, kryokonservierter Zellen. Goletz (2009) zeigte in ihren Untersuchungen, dass eine Konservierungszeit von 1,5 Jahren von 88,68% der Zellen überlebt wurde und sie keine Abweichungen in der Morphologie sowie ihrem Proliferationsverhalten zeigten. Demnach wäre eine Lagerung solcher Zellen und eine Anforderung des „Medikamentes“ bei Bedarf denkbar. Guest et al. (2008) erwähnen das Problem, dass MSC mit zunehmendem Alter des Pferdes schwerer aus dem Knochenmark zu isolieren sind und ihre Multipotenz verlieren. In den Untersuchungen von Arnhold et al. (2007) bestätigte sich diese Aussage nicht. Hier war der Proliferationsindex unabhängig vom Alter des Knochenmarks der Spenderpferde. Trotzdem sind es nicht selten ältere Pferde, die an Band- und Sehnenverletzungen leiden und eine solche Therapie in Anspruch nehmen müssten. Um das oben genannte Problem sowie das Risiko eines solchen Eingriffes beim älteren Pferd zu umgehen, könnten MSC von jungen, gesunden Pferden gewonnen und eingelagert werden. Bei Bedarf ständen diese allogenen Zellen zur Behandlung – auch älterer Pferde – zeitnah zur Verfügung.

Taylor et al. (2007) und Del Bue et al. (2008) sahen ebenfalls diese Vorteile einer Verwendung von allogenen MSC. Über erste Pilotprojekte über den Gebrauch von allogenen MSC bei Läsionen der OBS beim Pferd wurde bereits berichtet (Guest et al. 2008, Del Bue et al. 2008). In diesen Studien konnten keine signifikanten entgegenwirkenden Reaktionen oder sichtbaren äußeren Entzündungszeichen beobachtet werden. Da MSC immunmodulatorische Eigenschaften besitzen und eine Aktivierung sowie Proliferation von T-Zellen nicht stimulieren, sondern sogar hemmen (Aggarwal et al. 2005, Caplan et al. 2006, Guest et al. 2008, Xue et al.

2010), war eine immunologische Abwehr- und Abstoßungsreaktion eher weniger zu erwarten. Die Eigenschaften der MSC unterstützen die Verwendung von allogenen MSC in der regenerativen Medizin. Auch wenn die ersten Versuche mit allogenen MSC bei Pferden an den Beugesehnen des Pferdes durchgeführt wurden, sprach nichts gegen eine Verwendung dieser Zellen im M. interosseus medius.

Darüber hinaus gibt es keine Studien über die optimal verwendete Zellzahl bei der Behandlung von Sehnenschäden. Smith (2003) propagiert für den gewünschten Erfolg mindestens eine Zellzahl von 8 Millionen Zellen. In der vorliegenden Studie wurden 10 Millionen Zellen verwendet. Schnabel et al. (2009) verwendeten ebenfalls für ihre Untersuchungen Zellzahlen von 10 Millionen zur Behandlung von Läsionen der OBS an Vorderbeinen von Pferden. Daher erschien die hier verwendete Zellzahl ausreichend, auch wenn in dieser Richtung Bedarf nach Untersuchungen besteht.

### **5.3. Diskussion der Ergebnisse**

#### **5.3.1. Patientengut**

Studien aus dem englischen oder amerikanischen Raum, die Untersuchungen an Vollblütern oder Trabrennpferden durchgeführt haben (Kasashima et al. 2004, Perkins et al. 2005, Smith et al. 2008, Waselau et al. 2008), sind nicht ohne Weiteres auf die Pferdepopulation in Deutschland zu übertragen. Die vorliegende Pferdegruppe spiegelt mit 28 Warmblutpferden unterschiedlichen Alters die Population in Deutschland wider. Die Rasse des deutschen Warmblutpferdes ist weit verbreitet und die Tiere werden sowohl im Turnier- als auch im Freizeitsport genutzt. Der Gruppenumfang von 30 ist zwar ein Kritikpunkt, vor allem für Statistiker, aber Tierzahlen in Studien mit dem Versuchstier Pferd sind meist noch geringer (Smith et al. 2003, Crovace et al. 2007, Licitignola et al. 2008, Argüelles et al. 2008, Waselau et al. 2008, Schnabel et al. 2009).

Mit 50% wurde der überwiegende Teil der Pferdegruppe im Dressurbereich eingesetzt und spiegelt damit die Angaben in der Literatur wider. Auch Dyson et al. (2002) beschreiben ein vermehrtes Auftreten der Desmitis des M. interosseus medius beim Dressurpferd. Die klinische Problematik der Insertionsdesmopathie der Hintergliedmaße hat besonders im Dressur- und Trabrennsport eine große

Bedeutung (Schulze et al. 2008). Dies lässt sich mit der Funktion des M. interosseus medius erklären, der während der Stützbeinphase der Schrittfolge seine Hauptaufgabe verrichtet (Jansen et al. 1993, Dyson et al. 2002, Lischer 2010). Während der Lastaufnahme beim Stützen erfährt der M. interosseus medius die größte Zugbeanspruchung (Riemersma et al. 1996a, b). Dies spielt bei Dressurpferden im Zusammenhang mit der gewünschten Lastaufnahme auf die Hinterhand während der Versammlung sowie bei vielen schweren Dressurlektionen eine entscheidende Rolle.

Darüber hinaus waren in der vorliegenden Studie zum Untersuchungszeitpunkt Pferde im Alter von 4 bis 22 Jahren vertreten. Die Erkrankung tritt demnach bei Pferden aller Altersklassen auf. Auch diese Beobachtung deckt sich mit den Angaben in der Literatur (Dyson et al. 2002).

Des Weiteren fiel im Rahmen der klinischen Untersuchung auf, dass einige der Studienpferde übergewichtig waren. Dies könnte auch als ein weiterer prädisponierender Faktor diskutiert werden. Durch die erhöhte Körperlast wirkt im Stand ein höherer Druck auf das Fesselgelenk. In der Folge hat der M. interosseus medius in seiner stützenden Funktion ein höheres Gewicht zu tragen. Während des Stützens erfährt der M. interosseus medius aufgrund der erhöhten Lastaufnahme eine größere Zugbeanspruchung, wodurch fibrilläre Läsionen hervorgerufen werden können.

### **5.3.2. Dauer der Erkrankung**

Die Dauer der Erkrankung scheint bei der Anwendung von regenerativen Therapiemaßnahmen eine zentrale Rolle zu spielen. So wies van Weeren (2009) in einem Vortrag daraufhin, dass der Zeitpunkt der Behandlung hinsichtlich des Therapieerfolges von Bedeutung ist. Bei Untersuchungen von PRP-Behandlungen beim Menschen hatten diese bei 3-6 Monate alten Sehnenläsionen, seiner Aussage zufolge, keinen Effekt. Auch Pferdepraktiker, die sogenannte „Stammzelltherapien“ bei Sehenschäden in ihren Kliniken regelmäßig anwenden, berichteten in persönlichen Gesprächen ähnliches. Sie hatten die Beobachtungen gemacht, dass die Anwendung bei akuten Fällen zu guten Ergebnissen führte, hingegen in chronischen Fällen keine Veränderung brachte. Hingegen gibt die Literatur an, dass

für keine bestimmte Läsion oder Tierspezies der optimale Behandlungszeitpunkt bisher festgestellt werden konnte (Smith et al. 2003, Koch et al. 2009). Smith et al. (2003) warteten vor der Injektion der MSC genügend Zeit ab, so dass sich eine adäquate Angiogenese sowie Granulationsgewebe bilden konnten. Sie sahen darin eine ideale Verpflanzungsunterlage sowie eine bessere Unterstützung der MSC als hochgradig entzündete Läsionen. Aber auch hier ist insgesamt immer noch die Rede von akuten Sehnenschäden. 2 Pferde mit einem auffälligen hypoechogenen Defekt in den Sehnen zeigten nach Implantation der Zellen eine schnelle Auffüllung der Läsion. Die anderen Fälle, die mehr chronisch waren, zeigten wenig Veränderung (Smith et al. 2003). Die Ergebnisse von Lacitignola et al. (2008) zeigen eine histologische und immunhistochemische Verbesserung durch MSC in heilendem Sehngewebe in kollagenaseinduzierten Tendinitismodellen beim Schaf und beim Pferd. Aber auch hier fand eine Behandlung 3 Wochen nach Induzierung des Schadens statt. Demnach beziehen sich die Ergebnisse der Studie ebenfalls auf akute Läsionen. In Rattenmodellen mit induzierten Herzinfarkten waren die MSC-Anwachsung, die Überlebenszeit der Zellen und die Herzfunktionsparameter bei den Ratten besser, die eine Woche nach Läsioninduktion behandelt wurden – verglichen mit den Ratten mit Behandlungszeitpunkten nach eine Stunde, zwei Wochen oder nach einem Monat (Hu et al. 2007). Diese Aussagen zeigen, dass der Zeitpunkt der Behandlung und damit auch ihre Wirksamkeit in der Tat eine mögliche Rolle spielt und in dieser Hinsicht weitere Untersuchungen notwendig sind. Hingegen scheint sich eine Tendenz herauszufiltern, dass eine Behandlung in akuten Phasen der Erkrankung anzuraten ist. Dies wirft aber ein praktisches Problem auf. Wie auch die Daten der vorliegenden Studie zeigen, werden Pferde zur Behandlung mit solchen regenerativen Therapien in der Regel erst im chronischen Zustand der Erkrankung vorgestellt. Bei den Pferden dieser Studie bestand im Gesamtkollektiv eine Erkrankung des Fesselträgers im Median seit 5,5 Monaten. Hier lag demnach ein chronischer Erkrankungszustand vor. Ein weiteres Problem ist die Entstehung dieser Erkrankung. Die Ursache für Erkrankungen des M. interosseus medius sind fibrilläre Mikroläsionen, die durch Überbelastung bzw. Überdehnung dieser sehnenartigen Struktur entstehen können und bei weiterer Belastung zu größeren Schäden und Entzündungen führen (Schneider 2006). Zudem kann eine auftretende Lahmheit wechselhaft sein und nach längeren Ruhephasen ganz verschwinden und bei Belastung wieder auftreten (Lischer et al. 2006). Das Auftreten einer PSD an beiden Hintergliedmaßen resultiert oft eher in einer verringerten Hinterhandaktivität als in

einer deutlich sichtbaren Lahmheit (Dyson et al. 2002). Dies erschwert das Erkennen einer Erkrankung des M. interosseus medius und oft stellen die Besitzer die Pferde erst im chronischen Zustand dieser Erkrankung vor. Des Weiteren sind viele Pferdebesitzer erst bereit, sich für eine teure Behandlungsmethode zu entscheiden, wenn alle anderen Therapiemöglichkeiten erfolglos geblieben sind. So werden regenerative Behandlungsmethoden oft erst eine Option im späten Zustand dieser Erkrankung. Dies stellt hinsichtlich des optimalen Behandlungszeitpunktes und des Erfolges ein mögliches zu bedenkendes Problem dar. Dies muss auch im Rahmen dieser Studie beim Vergleich der 3 Gruppen untereinander bedacht werden. So bestand die Erkrankung mit einer Erkrankungsdauer von 2,5 Monaten in Gruppe B im Vergleich am kürzesten.

### **5.3.3. Häufigkeitsverteilung der betroffenen Gliedmaße**

Nach übereinstimmender Literaturmeinung treten die krankhaften Veränderungen öfter an der Hinterextremität auf und haben eine deutlich schlechtere Prognose bei längerer Heilungsdauer als an der Vordergliedmaße (Dyson 1994, Dyson et al. 1995, Rijkenhuizen et al. 1997, Lischer et al. 2006). Auch diese Angaben spiegeln sich in den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit wider. Innerhalb der Pferdeguppe trat bei 21 Pferden eine solche Erkrankung an der Hintergliedmaße auf. Dies lässt sich zum einen auch wieder mit dem vermehrten Einsatz der Pferde im Dressurbereich und der damit verbundenen vermehrten Belastung der Hinterhand erklären. Zum anderen ist es aber auch so, dass die Besitzer dieser Pferde in Folge der beschriebenen schlechteren Prognose bei längerer Heilungsdauer stark verzweifelt sind und aus diesem Grund eher in solchen Studien wiederzufinden sind.

### **5.3.4. Fehlstellungen der Gliedmaße**

Bei insgesamt 23 Pferden des Gesamtkollektivs war bei der speziellen klinischen Untersuchung eine Fehlstellung der Gliedmaße festzustellen. Hier konnte vor allem eine vermehrte Durchtrittigkeit im Fesselgelenk beobachtet werden. Es drängt sich etwas die Frage nach Ursache und Folge auf. Denkbar wäre eine angeborene weiche Fesselung der Pferde, die so zu einer erhöhten Durchtrittigkeit führt. Dadurch wird der M. interosseus medius während seiner Funktion noch stärker beansprucht.

In Folge dieser übermäßigen Überdehnung können größere Schäden entstehen. Hier könnte eine gesteigerte Durchtrittigkeit demnach als Ursache diskutiert werden. Hingegen konnte bei einigen Pferden eine vermehrte Durchtrittigkeit nur an der verletzten Gliedmaße beobachtet werden. Durch die Faserzerstörungen im M. interosseus medius kommt es hier möglicherweise zu einem Stabilitäts- und Funktionsverlust. Dadurch kommt es in der Folge an dieser Gliedmaße zu einer Hyperextension im Fesselgelenk. Moyer et al. (1980) berichten von einer Positionsveränderung und einer vermehrten dorsalen Beugung des Fesselgelenkes bei einer beidseitigen Schenkeldermitis an der Hintergliedmaße. So schildern einige Pferdebesitzer, dass die zu beobachtende Durchtrittigkeit erst nach der Verletzung des Fesselträgers bei ihren Pferden auftrat. Vermutlich spielen beide Komponenten eine Rolle. Durchaus ist es so, dass physikalische Faktoren, wie Fehlstellungen und Fehlbelastungen, einen prädisponierenden Faktor für eine Erkrankung des M. interosseus medius sind (Dyson et al. 2002, Smith 2002). Dyson et al. (2002) weisen aus diesem Grund auch daraufhin, den Huf sowie das ganze Pferd gründlich zu untersuchen, da Erkrankungen des M. interosseus medius oft eine ausgleichende Erkrankung infolge von Hufimbilanzen oder Fehlstellungen sind. Umgekehrt kann aufgrund des Vorliegens einer Fehlstellung nicht zwangsläufig auf das Auftreten einer solchen Erkrankung geschlossen werden. Jedoch sind diese Pferde einem denkbar höheren Risiko ausgesetzt, daran zu erkranken. Laut Dyson et al. (2002) erscheinen Pferde mit einem geraden Sprunggelenk ebenfalls prädisponiert für eine solche Erkrankung. Bei 2 Pferden dieser Studie fiel bei der Untersuchung eine gerade Winkelung im Sprunggelenk auf. Dyson et al. (1995) nehmen auch Exterieurmängel, wie lange Zehen, niedrige Trachten, vor allem bei gleichzeitig abnormaler Orientierung der Gliedmaße, als begünstigende Faktoren bei der Entstehung an. 9 Pferde des Gesamtkollektives zeigten eine vermehrte Fußung auf der Außentrachte des Hufes. Dadurch kann es zu der beschriebenen ursächlichen ungleichen Belastung der Gliedmaße und einer Erhöhung der Belastung des M. interosseus medius kommen (Moyer et al. 1980, Dyson et al. 2002, Smith 2002). Der in der Literatur beschriebene prädisponierende Zusammenhang von Fehlstellungen und Exterieurmängeln mit einer Erkrankung des M. interosseus medius (Moyer et al. 1980, Dyson et al. 1995, Smith 2002, Dyson et al. 2002) scheint sich in der vorliegenden Pferdegruppe bis hierhin zu verzeichnen.

### 5.3.5. Schwellung

Eine klinisch beobachtbare und palpierbare Umfangsvermehrung bei einer Desmitis des M. interosseus medius ist laut Literaturangaben abhängig von der Lokalisation, dem Grad sowie der zeitlichen Dauer der Verletzung.

Bei einer PSD kann gelegentlich in der akuten Phase eine geringe ödematöse Schwellung auf der palmaren bzw. plantaren lateralen oder weniger häufig auf der medialen Seite der Gliedmaße auftreten (Dyson et al. 1995). In langfristigen Fällen sind häufig keine auffälligen, palpierbaren Anomalitäten vorhanden (Dyson et al. 1995). Bei den Pferden der vorliegenden Pferdegruppe mit Problemen im Ursprungsbereich waren bei der Eingangsuntersuchung vor allem mittlere bis keine Umfangsvermehrungen zu beobachten. Da der M. interosseus medius im proximalen Bereich von einer Faszie umgeben ist (Lischer et al. 2006), wird hierdurch eine klinisch sichtbare Verdickung im Gegensatz zu anderen Lokalisationen sicherlich verhindert.

Eine Desmitis der Körperregion des M. interosseus medius geht laut Dyson et al. (1995) eher mit klinischen Anzeichen wie Wärme, Schwellung und Schmerz einher. Das Studienpferd mit einer Desmitis des Fesselträgerkörpers zeigte eine leichte Schwellung in diesem Bereich sowie bei Palpation eine Schmerzhaftigkeit.

Laut Literaturangaben sind Umfangsvermehrungen bei einer Desmitis der Fesselträgerschenkel sowie eine unterschiedlich starke Weichteilschwellung des umliegenden Gewebes palpierbar. In chronischen Fällen ist eine Verdickung des betroffenen Schenkels offensichtlich, aber die Palpation verursacht keine Schmerzen (Dyson et al. 1995). Diese Angaben decken sich mit den Beobachtungen dieser Studie. Bei den Pferden mit Veränderungen im Schenkelbereich traten hier vor allem leichte bis sehr starke Schwellungen auf. Die vorhandenen Umfangsvermehrungen waren bei der Palpation hart, derb und nicht schmerzhaft.

Im Verlaufe der Untersuchungsperiode von insgesamt 3 Monaten hat das Schwellungsausmaß der Gliedmaße in allen Gruppen abgenommen. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den 3 Behandlungsgruppen konnten nicht nachgewiesen werden. Ein zu diskutierender Kritikpunkt ist, dass das Schwellungsausmaß innerhalb einer Gruppe insgesamt betrachtet wurde –



unabhängig von der Lokalisation der Schwellung. Wie aus den Literaturangaben ersichtlich wird, ist diese aber aus anatomischen Gegebenheiten entscheidend. In dieser Hinsicht hätte das Schwellungsausmaß der verschiedenen Bereiche und deren Veränderung über die Zeit gesondert betrachtet und berechnet werden müssen. Da sich diese Studie nicht auf eine bestimmte Erkrankungsform des M. interosseus medius konzentrierte, waren dazu die Fallzahlen allerdings zu klein. Damit wären statistische Berechnungen nicht möglich gewesen.

### **5.3.6. Lahmheitsgrad**

Vor Behandlungsbeginn zeigten bis auf 2 Pferde alle Studienteilnehmer im Median eine deutliche Lahmheit. Auch hier deckten sich die Beobachtungen und Auffälligkeiten der sich darstellenden Lahmheiten mit den Beschreibungen in der Literatur.

Die Pferde mit einer Ursprungsproblematik an der Vordergliedmaße zeigten eine geringgradige Lahmheit. Laut Dyson et al. (2002) variiert eine Lahmheit bei einer PSD der Vordergliedmaße von gering bis mittelgradig. Die Pferde zeigten auf weichem Untergrund eine deutlichere Lahmheit als auf hartem Boden, wie es auch andere Autoren beschreiben (Moyer et al. 1980, Personet et al. 1983, Dyson et al. 1995, Dyson et al. 2002, Lischer et al. 2006, Rijkenhuizen et al. 2007). Zudem zeigte sich die Lahmheit deutlicher, wenn die betroffene Gliedmaße auf der Außenseite des Zirkels geführt wird. Dieses anscheinend typische Bild für eine Fesselträgerursprungsproblematik wurde so von den oben genannten Autoren ebenfalls beschrieben.

Bei einer solchen Problematik an der Hintergliedmaße zeigten die Pferde geringgradige bis mittelgradige Lahmheiten, wie es auch Dyson et al. (2002) schildern. Die Pferde präsentierten eine vermehrte Hangbeinlahmheit, bei der deutlich die Vorführphase der Gliedmaße verkürzt war. Auch diese Charakteristik der Lahmheit wird von anderen Autoren beschrieben (Dyson et al. 2002).

Der Lahmheitsgrad kann bei einer Lokalisation der Erkrankung in den Schenkeln des M. interosseus medius stark variieren oder sogar fehlen (Dyson et al. 1995, Dyson et al. 2002). Dies zeigte sich auch bei den Studienpferden mit einer

Schenkelproblematik. Hier variierte die Lahmheit von undeutlich geringgradig bis mittelgradig. Bei diesen Pferden war eine vermehrte Stützbeinlahmheit zu erfassen.

Diese anscheinend charakteristischen Schwerpunkte der Lahmheit bei unterschiedlichen Lokalisationen der Erkrankung könnten mit der anatomischen Lage und Funktion des M. interosseus medius in Verbindung gebracht werden. So vermag es durch Beugung des Karpal- bzw. Tarsalgelenkes, während des Vorführens der Gliedmaße bei einer bestehenden Ursprungsproblematik des M. interosseus medius, zu einer Schmerzäußerung zu kommen, wodurch diese Phase zur Vermeidung verkürzt wird. Hingegen erfahren die Schenkel des M. interosseus medius während der Stützbeinphase durch Lastaufnahme und Absenkung des Fesselgelenks eine vermehrte Dehnung und Zugbeanspruchung. Dadurch kommt es zur Schmerzhaftigkeit in diesem Bereich und diese Phase der Schrittverfolge wird zu verkürzen versucht.

Bei den 8 Pferden mit einer mittelgradigen Lahmheit war in allen Fällen die Hintergliedmaße betroffen. Dies lässt die Vermutung zu, dass eine Erkrankung des M. interosseus medius an der Hintergliedmaße zu einer stärkeren Schmerzhaftigkeit führt als an der Vordergliedmaße. Lischer et al. (2006) vermuten, dass es am Hinterbein bei einer Verdickung des eher rundlichen Fesselträgers wegen der Faszie zu einem Kompartmentsyndrom kommt, was die chronische Schmerzhaftigkeit erklärt.

Bei dem Vergleich der 3 Behandlungsgruppen hinsichtlich des Lahmheitsgrades besteht kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Verbesserung und der Behandlungsgruppe. Über den Beobachtungszeitraum verbesserte sich die Lahmheit insgesamt in allen Gruppen. Zu Studienbeginn zeigten alle Pferde im Median eine deutliche Lahmheit. Die zufällige Verteilung der Pferde mit unterschiedlichen Lahmheitsgraden fiel recht ausgeglichen aus. Allerdings fällt auf, dass zum Zeitpunkt der ersten Kontrolluntersuchung, 6 Wochen nach Eingangsuntersuchung, ein statistisch signifikanter Unterschied besteht. Der Besserungsgrad in der Placebogruppe A von der ersten zur zweiten Untersuchung war am größten. Dies gibt die Problematik in praxi wieder, dass die Pferde klinisch nach Ruhe und kontrollierter Bewegung deutlich besser bzw. gut sind, aber weiterhin sonographische Veränderungen zeigen. Die schnelle klinische Besserung sorgt aber

oft dafür, dass die Pferdebesitzer ihre Pferde wieder zu früh zu stark belasten und es zu einer erneuten Verschlimmerung der Erkrankung kommt.

### 5.3.7. Sonographische Untersuchung

#### Lokalisation der Läsion

Läsionen des M. interosseus medius in seiner Körperregion werden weniger häufig beobachtet als eine PSD oder eine Desmitis der Schenkel (Moyer et al. 1980). Die sonographisch festgestellte Verteilung der Lokalisation unterstützte diese Aussage. So zeigte aus der Pferdegruppe lediglich ein Pferd eine Veränderung des M. interosseus medius im Bodybereich. In 13 der 29 verbleibenden Fälle lag eine Läsion im Ursprung vor, bei den restlichen Pferden waren die Endschenkel betroffen.

#### Sonographische Befunde des M. interosseus medius

Die im Rahmen dieser Studie sonographisch beobachteten Veränderungen des M. interosseus medius deckten sich mit den Beschreibungen in der Literatur (Hauser et al. 1984, Dyson 1991, Dyson 1994, Dyson et al. 2002, Lischer et al. 2006, Lischer 2010).

Alle Pferde mit Veränderungen im Ursprungsbereich zeigten eine aufgelockerte und unregelmäßige Struktur. Bei 3 Pferden war eine solch aufgelockerte Struktur, die sich durch eine verringerte Echogenität darstellte, die einzige Auffälligkeit in der Sonographie. Die Befunde müssen jedoch sehr kritisch bewertet werden, da die Beurteilung durch Muskelfaserareale, vor allem im proximalen Bereich des M. interosseus medius, erschwert wird. Diese Areale stellen sich im Ultraschallbild ebenfalls hypoechogen dar und dürfen nicht mit Läsionen verwechselt werden. Das hypoechogene Erscheinungsbild von Muskelfasern kann leicht mit Sehnenfaserrissen verwechselt werden (Rijkenhuizen et al. 2007). In der Vordergliedmaße kann der proximale Teil des M. interosseus medius durch eine hypoechoische Region in eine dorsale und palmare Hälfte unterteilt sein. Auch dieser Teil sollte nicht mit einer Läsion verwechselt werden (Dyson 1991). Besonders die individuell variable Fesselträgermorphologie mit unterschiedlichen Anteilen von Muskelgewebe kann zu falschen Einschätzungen und sogar Fehldiagnosen führen – vor allem wenn eine diffuse Hypoechogenität in einem Bereich die *einzig*

sonographische Auffälligkeit ist. So kann davon ausgegangen werden, dass dieser besondere Aufbau des M. interosseus medius bei der Diagnosestellung in der Praxis nicht selten Probleme bereitet. Hier stellt sich die Frage, ob alle diagnostizierten Ursprungsschäden tatsächlich Ursache der vorliegenden Lahmheit sind oder das Problem eventuell doch woanders liegt. So kann es durchaus sein, dass das betroffene Pferd möglicherweise „nur“ einen vermehrten Muskelanteil in seinem M. interosseus medius enthält. Die Auffassungen der Autoren über den Muskelgewebsanteil weichen zum Teil stark voneinander ab (Wilson et al. 1991, Dyson et al. 1995, Soffler et al. 2006, Lempe 2007). Auch bezüglich eines altersabhängigen oder rasseabhängigen Unterschiedes gibt es Meinungsverschiedenheiten (Rooney 1973, Wilson et al. 1991, Nickel et al. 2001, Geyer 2006, Lempe 2006). Jedoch scheint der Muskelanteil im M. interosseus medius individuell unterschiedlich bedingt zu sein. Genetische Faktoren innerhalb und zwischen den Rassen könnten die wahrscheinlichste Erklärung für die beobachteten Unterschiede sein. So scheint die DSLD mit einer hohen Frequenz beim Peruvian Paso sowie Kreuzungen mit dieser Rasse aufzutreten. Darüber hinaus wird die Krankheit gehäuft in familiären Linien beobachtet. Deswegen nehmen Young (1993), Hayes (1994) und Halper et al. (2006) eine hereditäre Komponente an. Interessant wäre auch herauszufinden, ob das vermehrte Auftreten dieser Erkrankung beim Peruvian Paso mit einem möglicherweise höheren Muskelanteil im M. interosseus medius zusammenhängen könnte. Diese Pferde zeichnen sich oft durch eine sehr weiche Fesselung und einem damit verbundenem Sitzkomfort aus. Denkbar wäre, dass diese weiche Fesselung Folge eines höheren Muskelanteils ist.

Allerdings ist noch viel zu wenig über den Muskelanteil im M. interosseus medius, einer möglichen Vererbung dieser Anteile sowie der Ultrastruktur bekannt, wie die Kontroversen in der Literatur zeigen. Daher besteht in dieser Richtung noch Untersuchungs- und Klärungsbedarf. So stellt sich die Frage, ob sich die Muskelfasern quergestreifter Muskulatur (Soffler et al. 2006) bei Belastung aktiv kontrahieren und den M. interosseus medius so in seiner Aufgabe unterstützen. Oder führen die Muskelfasern möglicherweise infolge der Inhomogenität des Gewebes eher zu einer Schwächung des Gesamtgewebes und machen Pferde mit einem genetisch veranlagten erhöhten Muskelfaseranteil im M. interosseus medius anfälliger für eine solche Erkrankung.

Neben der beschriebenen aufgelockerten Struktur zeigten einige Pferde fokale, hyperechogene Bereiche im proximalen Anteil des M. interosseus medius. Zum Teil war hinter diesen Arealen eine anschließende Schallauslöschung zu beobachten. Diese Gebiete stellen Mineralisationen dar. Im Rahmen des Heilungsprozesses kommt es zur Bildung von kollagenem Narbengewebe (Stashak 1989). Das Narbengewebe kann verknorpelte oder verkalkte Bereiche aufweisen (Webbon 1973). Die auf starke Traumatisierung folgenden Reparationsprozesse gehen von Tendozyten und chondroiden Zellen des den Nekroseherd umgebenden gesunden Gewebes aus. Folge dieser reparativen Umstrukturierungen sind inselförmige chondroide Metaplasieherde, die später durch Mineralisation und schließlich enchondrale Ossifikation weiter verfestigt werden können (Weiler 2000). Dies verdeutlicht bei Studienpferd Nr. 2 den fortgeschrittenen Zustand der Erkrankung.

Bei 5 Pferden stellte sich im Ultraschallbild in der Schenkelumgebung vermehrt echogenes Material dar. Dieses befand sich vor allem subcutan und zwischen den Schenkeln gelegen. Das Gewebe repräsentiert peritendinöse Fibrosen (Webbon 1973), die zudem für eine Chronizität der Erkrankung sprechen.

### **5.3.8. Ultraschallbefunde der Nachkontrollen**

#### **Behandlungsgruppe A**

In der Literatur wurde eine Vielzahl an Behandlungen für das Management von Überbelastungsverletzungen bei Band- und Sehnenstrukturen befürwortet. Allerdings gibt es nur wenige Beweise, dass sie effektiver sind als eine verlängerte Zeit der Rehabilitation mit vorsichtiger kontrollierter Bewegung (Smith et al. 2003, Smith et al. 2005). In der vorliegenden Studie zeigte die Gruppe A zum Zeitpunkt der ersten Kontrolluntersuchung im Vergleich zu den beiden Behandlungsgruppen klinisch eine signifikante Besserung. Das Gewebe stellte sich in Behandlungsgruppe A nach 12 Wochen im Ultraschall dichter und echogener dar. Die veränderten Bereiche waren mit neugebildeten Fasern aufgefüllt, die in ihrer Struktur noch sehr unregelmäßig erschienen. Die Ergebnisse zeigen, dass insgesamt auch in der Placebogruppe eine deutliche klinische und sonographische Besserung aufgetreten ist. Ähnliche Ergebnisse präsentierten Schnabel et al. (2009). In ihrer Studie konnten bei den Ultraschallparametern keine signifikanten Unterschiede zwischen den MSC-

behandelten Sehnen und ihrer jeweiligen Kontrolle während der 8-wöchigen Heilungsphase nach der Behandlung gefunden werden.

Das bemerkenswerte Ergebnis, dass sich die Placebogruppe klinisch und sonographisch nicht signifikant von den beiden Behandlungsgruppen unterscheidet, beruht teilweise auf dem sehr guten Einfluss des Rehabilitationsprogrammes mit kontrollierter Bewegung, welches zusammen mit dem natürlichen Heilungsverlauf offenbar unterschätzt wird. Dieser Punkt wird auch von anderen Autoren in der Literatur angerissen (Blobel 1988, Rijkenhuizen et al. 2007, Lacitignola et al. 2008). Die Betreuung der Pferde während der naturbedingten langen Zeit der Abheilung von Band- und Sehnenverletzungen ist von enormer Bedeutung. Für die Wiederherstellung ist ein gut aufgebautes Trainingsprogramm wahrscheinlich wichtiger als jede unterstützende palliative Therapie. Unter einer Förderung der Heilung wird eine bessere und nicht eine schnellere Heilung verstanden. Der Zweck des kontrollierten Aufbaus besteht darin, die Entzündung anfänglich mit Ruhe zu dämpfen und in der Folge mittels Bewegung und zunehmender Belastung den Heilungsverlauf zu stimulieren und eine Ausrichtung der neugebildeten Fasern entlang der Stresslinien zu erreichen. Das Rehabilitationsprogramm wird anhand von regelmäßigen sonographischen Kontrolluntersuchungen dem entsprechenden Heilungsverlauf individuell angepasst. Ausmaß und Dauer der Bewegung basieren auf dem Grad der Besserung (Gillis 1997). Eine zu früh einsetzende Belastung kann die Läsion verschlechtern. Ein zu langsamer Aufbau hingegen kann zu einer Verminderung der Belastungsfähigkeit führen. Rijkenhuizen et al. (2007) propagieren ein kontrolliertes Bewegungsprogramm als eine wichtige unterstützende Maßnahme zur Verhinderung von Rezidiven. Bei der Analyse von 239 Pferden mit einer Desmitis des M. interosseus medius oder einer Desmopathie des Fesselträgerursprungs an der Vorder- oder Hintergliedmaße konnte festgestellt werden, dass die Gruppe mit Weidegang alleine eine Tendenz zu weniger günstigen Ergebnissen hatte. Hingegen erreichten 66,3% der Pferde, die konservativ mit Boxenruhe und kontrolliertem Bewegungsaufbau therapiert wurden, ihr früheres Leistungsniveau (Rijkenhuizen et al. 2007). Ebenso spricht Blobel (1988) der dosierten aufbauenden Bewegung, neben der Injektionstherapie, große Bedeutung zu. Auch die Pferdebesitzer dieser Studie äußerten eine gute Resonanz auf das Bewegungsaufbauprogramm. So war eine Pferdebesitzerin der Meinung, dass die Bewegung mit Steigerung der Belastung den Krankheitsverlauf wesentlich zur besseren Heilung beeinflusst hat. Sie berichtete

weiter, dass ihr Pferd in den 1,5 Jahren vorher auf Anweisung der Tierärzte nur Schritt gehen durfte und der Fesselträger bei nur leichter Belastung im Trab direkt wieder verletzt war.

Ein weiterer Punkt mit einem möglichen Einfluss auf die Besserung in dieser Behandlungsgruppe stellt die Biopsieentnahme dar. Zu jedem Untersuchungszeitpunkt wurde jedem Pferd aus dem Bereich der Läsion eine Biopsie entnommen. Hier muss kritisch beurteilt werden, welchen möglichen Effekt das Stechen mit der Biopsienadel hat. So fanden in der Vergangenheit auch chirurgische Methoden, wie das sogenannte *Splitting*, Anwendung bei der Therapie von chronischen Sehnenleiden sowie Veränderungen des M. interosseus medius (Knudsen 1976, Webbon 1979). Mit dieser Operation nach „Forssell und Asheim“ wird versucht, durch kleinere perkutane oder durch die ganze Sehne längs trennende Inzisionen ein vermehrtes Einwachsen von Gefäßen und eine Aktivierung des Granulationsgewebes zu erreichen (Henninger et al. 1992).

Wie bereits erwähnt, bestand bei den meisten Pferden dieser Studie eine chronische Veränderung des M. interosseus medius. So ist es denkbar, dass durch das Stechen mit der Biopsienadel in den veränderten Bereich ein ähnlicher Effekt wie beim *Splitting* auftrat. So kam es dadurch möglicherweise zu einer Aktivierung des chronischen Prozesses und in der Folge zu einer verbesserten Vaskularisation des veränderten Gebietes. Der Heilungsprozess verläuft besser unter Beteiligung der extrinsischen Blutversorgung und Kollagen produzierenden Zellen. *Splitting* unterstützt die Kommunikation zwischen dem Kern der Sehne und dem peritendinösen Gewebe (Henninger et al. 1992). Demnach kann nicht abschließend geklärt werden, wie groß dieser beschriebene Effekt auf die Verbesserung innerhalb der Gruppe A war.

### **Behandlungsgruppe B**

Die Gruppe B zeigte klinisch und sonographisch eine deutliche Verbesserung, die sich aber nicht signifikant von den anderen Gruppen unterschied.

In vivo Studien zeigen, dass bei Verletzungen des Sehnengewebes die Produktion an Wachstumsfaktoren steigt (Kall et al. 2004). Wachstumsfaktoren sind chemotaktisch wirkende Agenzien für Fibroblasten und können eine Migration dieser Zellen bewirken (Herthel 2003). Sie stimulieren außerdem die Angiogenese,

induzieren Mitose und formatieren neue Blutgefäßkapillaren. In verletztem Gewebe konnte eine vermehrte Expression von PDGF, TGF- $\beta$  1 sowie EGF nachgewiesen werden (Chang et al. 1997). All diese Faktoren wurden auf ihre Fähigkeit untersucht, die Mitose von Tendozyten sowie die Synthese von Matrixproteinen wie Kollagen des Typ - I bzw. III zu unterstützen (Dahlgren et al. 2007, Smith et al. 2006, Schnabel et al. 2007, Schnabel et al. 2008). Es konnte eine Abnahme der Gewebeswellung, Zunahme der Zellproliferation und eine vermehrte Kollagensynthese nach Injektion von IGF-1 in Beugesehnen beim Pferd mit einer Tendinitis beobachtet werden (Dahlgren et al. 2002). Demnach deuten auch in vitro Ergebnisse auf eine viel versprechende Behandlung mit Wachstumsfaktoren hin, aber auch hier fehlen klinische Daten (Goodrich 1994). Da Thrombozyten viele Wachstumsfaktoren enthalten und diese während des PRP-Zentrifugationsprozesses konzentriert werden, ist die Gabe von PRP eine klinisch attraktive Therapie zur Behandlung von Band- und Sehnenschäden. Diese Thrombozytenkonzentrate sind autologe Quellen für einige Wachstumsfaktoren, die Entzündung modulieren und die Gewebereparatur beeinflussen (Argüelles et al. 2008). So entstand der Entschluss, eine Pferdegruppe einer PRP-Behandlung zu unterziehen.

Waselau et al. (2008) injizierten in einer in vivo Studie PRP mit bovinem Thrombin in M. interosseus medius Läsionen bei 9 Trabrennpferden. Es konnten dabei keine assoziierten Komplikationen mit der intraläsionalen Injektion von PRP beobachtet werden. Auch in der Behandlungsgruppe B der vorliegenden Studie traten keine gravierenden Reaktionen als Folge der Injektion auf. Diese kann daher als gut verträglich beschrieben werden. Lediglich bei einem Pferd zeigte das Bein eine Schwellung, die nach 2 Tagen – ohne medikamentelle Beeinflussung - deutlich abnahm.

Die 9 Trabrennpferde der oben genannten Studie kehrten nach der Behandlung alle zur Rennleistung zurück. Allerdings ist hier zu erwähnen, dass zwischen der Verletzung und dem Behandlungszeitpunkt durchschnittlich 4 Wochen lagen. Demnach handelt es sich in dieser Studie um eher akute Fälle. Auch hier drängt sich wieder die Frage nach dem idealen Behandlungszeitpunkt auf. Des Weiteren unterlagen alle Pferde dieser Studie einem kontrollierten Bewegungsaufbauprogramm. Waselau et al. (2008) kritisieren selbst, dass nicht zu bestimmen ist, wie viel jede Komponente zum Erfolg beigesteuert hat. So stellen sie sich selbst die Frage, ob die Ergebnisse bei einer PRP-Behandlung oder



kontrollierter Bewegung alleine gleich gewesen wären. Hier wird das Problem einer fehlenden Kontrollgruppe wieder deutlich. Wie bereits beschrieben, darf der Einfluss des Bewegungsprogrammes nicht unterschätzt werden.

Argüelles et al. (2008) beschreiben die Behandlungsergebnisse mit PRP ihrer in vivo Studie von 5 Pferden mit Sehnen- und Bandverletzungen. Die Läsionen von 2 Pferden mit OBS-Schäden und von 3 Pferden mit einer PSD wurden dreimal im Abstand von 2 Wochen mit intraläsionaler PRP-Injektion behandelt. Die OBS-Fälle verbesserten sich klinisch und sonographisch signifikant. Die Pferde mit einer PSD zeigten im Ultraschall keine Besserung, verbesserten sich aber klinisch und kehrten zu dem Leistungsniveau vor ihrer Verletzung zurück. Bei der Beschreibung dieser Ergebnisse zeigt sich deutlich die Diskrepanz von akuten und chronischen Schäden. Bei den 2 Pferden mit OBS-Läsionen handelte es sich um akute Fälle. Die anderen 3 Studienpferde litten an einer chronischen PSD. Zum einen scheint sich hier die oben beschriebene Vermutung aufzudrängen, dass die Anwendung bei akuten Fällen zu guten Ergebnissen führt, hingegen in chronischen Fällen keine Veränderung bringt. Zum anderen muss der Aufbau dieser Studie kritisiert werden. Es wird nicht beschrieben, an welchen Gliedmaßen die Läsionen auftraten. So ist bekannt, dass die Verletzungen abhängig von ihrer Lokalisation unterschiedliche Prognosen haben (Dyson et al. 2002). Des Weiteren fehlt dieser Studie, wie so oft, eine Kontrollgruppe und der Gruppenumfang war mit insgesamt 5 Pferden sehr klein gewählt. Darüber hinaus untersuchten Schnabel et al. (2008) in vitro die Wirkung verschiedener Blutbestandteile auf Zellkulturen vom M. interosseus medius. Im Jahre 2006 haben sie unter Zugabe der gleichen Behandlungsmethoden ihren Einfluss auf isolierte Tendozytenkulturen von oberflächlichen Beugesehnen des Pferdes untersucht (Schnabel et al. 2006). Die Ergebnisse der beiden Zellkulturen fielen unterschiedlich aus. Diese Unterschiede im Matrixmetabolismus zwischen M. interosseus medius und der OBS sind nicht überraschend, wenn man die Unterschiede ihrer molekularen Zusammensetzung und mechanischen Kräfte in vivo betrachtet. Dies verdeutlicht aber wieder, dass die vielen Studien über die regenerativen Behandlungen von OBS bzw. TBS nicht auf den M. interosseus medius übertragen werden können. Aufgrund des unterschiedlichen Aufbaus braucht diese Struktur eigene Studien.

Argüelles et al. (2008) behandelten die Pferde dreimal im Abstand von 2 Wochen mit PRP. Auch Ionita (2010) propagiert die Notwendigkeit einer wiederholten Applikation, zwei bis dreimal im Abstand von 2 Wochen. In der vorliegenden Studie wurde

lediglich 1mal behandelt, wie es auch in anderen Studien der Fall war (Waselau et al. 2008, Bosch et al. 2010). Über die Notwendigkeit einer mehrmaligen PRP-Behandlung ist aber noch viel zu wenig bekannt. Zu bedenken ist hier, dass es durch eine wiederholte Injektion und der eingespritzten Flüssigkeitsmenge zu einer Schädigung oder Zerstörung der bereits neu gebildeten, jungen Kollagenfasern kommen kann. Auch über die Behandlungsanzahl besteht noch Untersuchungsbedarf.

Das extrazelluläre Matrixprotein COMP wurde in hohen Mengen in Pferdesehnen gefunden, wohingegen in fibrösem Narbengewebe geringe Anteile enthalten sind. Sehnenfibroblasten in Kultur synthetisieren COMP langsam in Abwesenheit von Wachstumsfaktoren. Hingegen wurde unter Zugabe von verschiedenen Wachstumsfaktoren, v.a. von TGF- $\beta$  1, ein dramatischer Anstieg der COMP-Synthese beobachtet (Smith et al. 2006).

Smith et al. (2006) führten ähnliche Untersuchungen wie Schnabel et al. (2008) durch und züchteten in vitro Proben des M. interosseus medius mit verschiedenen Agenzien, u.a. mit PRP, an. Ihr Ziel war die metabolische Antwort der Fibroblasten aus M. interosseus medius - Kulturen zu untersuchen.

Die COMP-Synthese und der totale Proteingehalt waren in mit PRP-behandelten Kulturen, im Vergleich zur Kontrollgruppe, erhöht. Die direkte Rolle des COMP bleibt unklar, aber es gibt Hinweise darauf, dass COMP-Gehalte während der Sehnenreifung mit der Sehnenstärke korrelieren (Smith et al. 2002). Schnabel et al. (2006) konnten einen altersabhängigen Anstieg in der COMP-Produktion beobachten. So synthetisierten unreife OBS-Zellen mehr COMP als reife Zellen. Dies lässt eine wichtige Rolle im Sehnenwachstum vermuten. Darüber hinaus konnten Schnabel et al. (2006) in der PRP-Gruppe eine Erhöhung der mRNA-Expression von Kollagen - Typ I und III beobachten. Zum einen muss hier natürlich geklärt werden, inwieweit dies auf den M. interosseus medius übertragen werden kann, und die in vivo-Antwort der Zellen muss untersucht werden. Die Ergebnisse der Ultraschalluntersuchung der vorliegenden Studie zeigen eine deutliche Zunahme der Echogenität in der festgestellten veränderten Region. Die Defekte waren bereits nach 6 Wochen größtenteils mit Fasern aufgefüllt, die sich zu diesem Zeitpunkt noch unregelmäßig darstellten.

Schnabel et al. (2006) stellten weiterhin fest, dass die TGF- $\beta$  1- und PDGF-Konzentrationen in PRP signifikant höher waren als in den anderen verwendeten Produkten. Das mit Hilfe des „SmartPReP2®“ der Firma „Harvest Technologies®“ hergestellte PRP enthält PDGF in einer Konzentration von  $133 \pm 29,2$  ng / ml und TGF- $\beta$  in einer Höhe von  $170 \pm 42,3$  ng / ml (Marx 2004). Ein Kaninchen - Wundheilungsmodell an Beugesehnen präsentiert nach Sehnenverletzung eine Erhöhung der TGF -  $\beta$  1-Rezeptoren (Chang et al. 1997). Darüber hinaus sind gesunde Sehnenzellen in der Lage TGF -  $\beta$  1 zu produzieren. Diese Bildung wird in der Umgebung der Läsion aktiviert (Chang et al. 1997). Daneben wurde gezeigt, dass sich in vitro Zellkulturen von Kaninchenbeugesehnen nach Zugabe von TGF-  $\beta$  1 durch eine gesteigerte Synthese von Kollagen - Typ I und III auszeichneten (Klein et al. 2002). Immunhistochemische Ergebnisse von Sehnenkulturen, die mit Wachstumsfaktoren behandelt wurden, zeigen, dass das - in Folge der gesteigerten Kollagensynthese - gebildete Kollagen vom Typ I ist (Murphy et al.1997). Diese Ergebnisse zeigen, dass TGF -  $\beta$  1 sowie andere Wachstumsfaktoren im Rahmen der Wundheilung eine erhebliche Rolle zu spielen scheinen. Demnach liegt die Vermutung nahe, dass durch den hohen Gehalt an TGF-  $\beta$  1 im PRP auch ein Einfluss auf die Wundheilung des M. interosseus medius in den vorliegenden Fällen genommen werden konnte. Hier werden ebenfalls im Folgenden die Auswertungen der Bioplate Aufschluss darüber bringen, welche Qualität die aufgefüllten Defekte aufweisen.

Ferner fielen bei den Ultraschallnachkontrollen in dieser Behandlungsgruppe zum Teil hyperechogene Bereiche im M. interosseus medius sowie vermehrt echogenes Material im umliegenden Gewebe auf. Laut Chang et al. (1997) bewirkt TGF-  $\beta$  1 in der Pathogenese eine exzessive Narbenbildung. Dies könnte eine Erklärung für das vermehrt gebildete Gewebe sein. Hier liegen allerdings Wirkung und unerwünschte Nebenwirkung nah beieinander. So ist eine Kollagenproduktion, um den Defekt aufzufüllen, erwünscht, eine übermäßige Narbenbildung, v.a. im umliegenden Gewebe, hingegen ganz und gar nicht. Dieses Narbengewebe zwischen den Fesselträgerschenkeln und im angrenzenden Gebiet bewirkt wiederum einen Verlust an Elastizität. Dadurch kommt es in der Folge zu erheblichen Funktionsbeeinträchtigungen und kann prädisponierend für ein Rezidiv sein. Hingegen war bei biomechanischen Versagens - Tests und in elastischen Modellen im Vergleich bei den PRP-behandelten Sehnen bis zur Ruptur eine größere Kraft

notwendig als bei den Kontrollsehnen (Bosch et al. 2010). PRP zeigt demnach ein Potential für den Einsatz bei Band- und Sehnenheilung beim Pferd. Allerdings besteht hier für den routinemäßigen Einsatz weiterhin großer Untersuchungsbedarf.

Viele Studien, die unter der Überschrift „Stammzelltherapie“ stehen, sind für den Leser sehr verwirrend und irreführend. So wurden in diesen Studien Knochenmarkaspirate in die Läsion gespritzt (Herthel 2003, Rosenbrock et al. 2004) oder MSC mit anderen biologischen Faktoren wie autologem Serum (Smith et al. 2003) oder PRP kombiniert (Del Blue et al. 2008). Hier ist die Effizienz der Behandlungen schwer zu beurteilen. Zum einen fehlen auch hier, wie so oft, die Kontrolltiere, zum anderen ist zu bedenken, dass autologes Knochenmark neben MSC weitere Bestandteile, wie Wachstumsfaktoren, Makrophagen, Thrombozyten, Fibronectin, Fibrinogen, Endothelzellen, Fettzellen und womöglich kleine Knochenspitzen beinhaltet (Smith et al. 2003, Herthel et al. 2003). So befinden sich in 30 ml Knochenmarkaspirat 6 Milliarden Thrombozyten (Herthel et al. 2003), die wiederum eine Vielzahl an Wachstumsfaktoren gespeichert haben. Herthel et al. (2003) beschreiben in der sonographischen Verfolgung der Fesselträgerheilung eine verbesserte Qualität des Faserverlaufes, eine Abnahme des Querschnittes und eine Zunahme der Echogenität. Dies allerdings unter dem Motto „klinische Verwendung von Stammzellen“ laufen zu lassen, führt beim Leser zu einer falschen Vorstellung. An dem Punkt sei wieder auf die Notwendigkeit der genauen Formulierung hingewiesen. Denn die Ergebnisse dieser Behandlung bleiben kontrovers, da nicht herauszufinden ist, ob die im Knochenmark enthaltenden MSC die Kapazität hatten, die Heilungsantwort zu verbessern. Zudem ist fraglich, ob und wenn ja wie viele MSC in den verwendeten Knochenmarkaspiraten enthalten waren. So ist nach den obigen Beschreibungen denkbar, dass die beobachtbaren positiven Effekte von den Wachstumsfaktoren stammen. Es besteht aber auch die Möglichkeit, dass eine ganz andere Komponente in Betracht zu ziehen ist.

Ferner beschreiben Smith et al. (2003) positive Behandlungseffekte. Aber auch hier muss die vage Formulierung aufgezeigt werden. So berichten sie von ihren Behandlungserfolgen unter der Überschrift „Isolation and implantation of autologous equine mesenchymal stem cells from bone marrow into the superficial digital flexor tendon as a potential novel treatment“ (Smith et al. 2003). In Wirklichkeit haben sie aber 600.000 Zellen der isolierten MSC in 1,5 ml autologem Plasma resuspendiert und anschließend in die Läsion injiziert. Hier bleibt unklar, welche Wirkung

womöglich das Plasma bzw. seine Bestandteile auf den Heilungsprozess hatten, da auch hier eine Kontrolle fehlt.

### **Behandlungsgruppe C**

Die Pferde der Behandlungsgruppe C zeigten klinisch und sonographisch über den zeitlichen Verlauf eine deutliche Besserung. Die Läsionen des M. interosseus medius der Pferde wurden hier mit allogenen MSC behandelt. Sonographisch nahm die Echogenität in den veränderten Bereichen zu. Bereits nach 6 Wochen war bei allen Pferden dichteres Gewebe zu beobachten. Allerdings unterschied sich diese Behandlungsgruppe klinisch und sonographisch, wie bereits oben erwähnt, nicht signifikant von der Placebogruppe. Schnabel et al. (2009) fanden in ihrer Studie ebenfalls keine signifikanten Unterschiede bei den Ultraschallparametern zwischen den MSC-behandelten Sehnen und ihrer jeweiligen Kontrolle während der achtwöchigen Heilungsphase nach der Behandlung. Hingegen bestand bei den MSC-behandelten Sehnen eine signifikante Verbesserung in der histologischen Untersuchung am Ende der Studie.

Diese Ergebnisse erhöhen die Spannung auf die ausstehenden Ergebnisse der elektronenmikroskopischen Untersuchung der im Rahmen dieser Studie entnommenen Biopsien. Sollte sich bei den Untersuchungen herausfiltern, dass MSC in der Lage sind, bestehende Läsionen mit Kollagen-Typ I aufzufüllen, so wären alle Diskussionen überflüssig. In diesem Falle wäre eine solche Therapie Mittel der Wahl, denn Ziel von Band- und Sehnenverletzungen sollte die Geweberegeneration mit voller funktioneller Wiederherstellung sein. Im Falle einer möglichen Auffüllung der Läsion mit ursprünglichem Gewebe unter dem Einfluss von MSC, würde eine Behandlung mit allogenen MSC die oben beschriebenen Vorteile bringen. Allerdings müssten hier noch weitere Untersuchungen durchgeführt werden. Hier stellt sich die Frage, ob und welche Unterschiede es zwischen der Behandlung mit autologen und allogenen MSC gibt. Diese Fragestellung konnte in der vorliegenden Studie leider nicht mit abgedeckt werden. Dazu wäre eine 4. Behandlungsgruppe mit autologen MSC notwendig gewesen. Dafür hätte aber im Rahmen der Blindstudie bei allen Pferden ein Knochenmarkaspirat entnommen werden müssen. Dies war allerdings nicht durchführ- und verantwortbar. Zudem ist es auch schwer möglich, alle Fragestellungen in einer Studie abzudecken. Guest et al. (2008) injizierten in ihrer Studie zwar autologe und allogene MSC in chirurgisch induzierte Läsionen,

allerdings war ihre Studie nicht dafür konzipiert, eine Behandlungseffizienz zu untersuchen. Hier ging es lediglich darum, eine mögliche Verwendung von allogenen MSC beim Pferd aufzuzeigen.

Aus rein immunologischer Sicht hingegen scheint eine Behandlung mit allogenen MSC möglich zu sein. Guest et al. (2008) konnten während ihrer 30-Tage-Studie keine signifikanten entgegenwirkenden Reaktionen beobachten. Es gab keine sichtbaren äußeren Entzündungszeichen. In der hier vorliegenden Pferdegruppe konnten ebenfalls keine erkennbaren Abwehrreaktionen auf die allogenen MSC erfasst werden. Bei einem Pferd trat nach der Injektion eine Schwellung auf, die aber nach 2 Tagen von alleine deutlich zurückging. Worauf diese Schwellung zurückzuführen war, konnte jedoch nicht geklärt werden.

Bei 2 Pferden dieser Verumgruppe wurden vor der Behandlung, sowie 24 und 48 Stunden danach, Blutproben entnommen. Diese dienten dazu, Anhaltspunkte auf eine mögliche Abwehrreaktion auf die allogenen MSC zu erhalten. Es wurden Differentialblutbilder erstellt. Außerdem fand eine Bestimmung des Fibrinogen-, Serum Amyloid A- und Haptoglobin - Gehaltes von allen Proben statt. Alle Werte lagen zu allen Untersuchungszeitpunkten im Referenzbereich. Auch hier konnten keine gravierenden Anhaltspunkte auf eine Abstoßungsreaktion gefunden werden.

Del Blue et al. (2008) injizierten aus Fettgewebe isolierte allogene MSC in geschädigte Sehnen. Sie konnten ebenfalls keine Komplikationen nach der Injektion beobachten. In ihren Untersuchungen kehrten 14 der 16 behandelten Pferde zu ihrer Leistung zurück. Allerdings sagt ihre Studie nichts über die Wirkung der allogenen MSC aus, da diese in Kombination mit PRP in die Läsionen injiziert wurden. So bleibt unklar, worauf die Wiedereinsetzbarkeit der Pferde zurückzuführen ist. Darüber hinaus fehlte auch hier eine Kontrollgruppe. Des Weiteren geht aus der Literatur nicht hervor, welche Sehnenstruktur bzw. welches Bein behandelt wurde. Wie bereits verdeutlicht, spielt die Lokalisation durchaus eine Rolle. Diese Studie dient demnach lediglich zur Bestätigung der Verträglichkeit der allogenen MSC.

Allerdings wirft die genannte Studie noch eine andere Frage auf: Ist die Besserung möglicherweise auf eine Kombination der MSC mit den Wachstumsfaktoren des PRP zurückzuführen und inwieweit sind MSC alleine therapeutisch sinnvoll. So untersuchten Worster et al. (2000) den morphologischen und phänotypischen Einfluss von TGF- $\beta$  1 auf kultivierte MSC vom Pferd. Die MSC-Kulturen, die TGF- $\beta$  1

ausgesetzt waren, zeigten eine gesteigerte Zelldichte und eine erhöhte Expression von Kollagen-Typ I-m-RNA. Diese war 2,8mal höher als in den Kontrollkulturen. Auch Colleoni et al. (2009) stellten dar, dass der Zusatz von bFGF die Proliferation von MSC - aus Fettgewebe und Knochenmark isoliert - erheblich erhöht. So wäre eine kombinierte Anwendung möglicherweise sinnvoll. Eine solche Behandlungsgruppe konnte in die vorliegende Studie leider nicht integriert werden. Untersuchungen in diese Richtung wären jedoch sehr interessant.

Bei den Pferden der Behandlungsgruppe C fielen nach 3 Monaten zum Teil verdichtete Zonen und hyperechogene Bereiche in der Struktur des M. interosseus medius auf sowie echogenes Material im umliegenden Gewebe. Es ist unklar, ob es – ähnlich wie in der Gruppe B – als Folge der Behandlung zu einer vermehrten Narbenbildung kommt. Über den in vivo Einsatz, die Folgen und die Langzeitwirkungen von MSC besteht noch dringender Untersuchungsbedarf.

Die Pferde der Gruppe C litten im Median seit 8,5 Monaten an einer Erkrankung des M. interosseus medius. Damit lag ein chronischer Erkrankungszustand vor. Auch bei einer Behandlung mit MSC ist die Frage nach dem idealen Zeitpunkt ungeklärt. Zwar berichten Pferdepraktiker, die eine solche Therapie in ihren Kliniken anwenden, dass die Anwendung bei akuten Fällen zu guten Ergebnissen führt, hingegen in chronischen Fällen keine Veränderung bringt. Bei den Pferden dieser Studie kam es trotz chronischem Erkrankungszustand zu einer Durchbauung der Defekte. Im Rahmen der Untersuchungen von Goletz (2009) wurde auch der klinisch - therapeutische Einsatz der MSC an Läsionen der OBS, TBS und des M. interosseus medius getestet. Die Mehrzahl der Defekte stellte ein chronisches Leiden dar. Die Ultraschallergebnisse ergaben hier, dass es zu einer Durchbauung der Läsionen innerhalb von 3 Monaten kam. Aufgrund des Fehlens einer Kontrollgruppe bleibt hier ebenfalls offen, ob der Effekt auf die Behandlung zurückzuführen ist oder ob es auch unbehandelt zu dieser Durchbauung gekommen wäre. Im vorliegenden Fall muss – wie in der Behandlungsgruppe A – der mögliche dargestellte Einfluss der Biopsie abgewogen werden.

### **5.3.9. Ultraschall-Score**

Bei dem Vergleich der 3 Behandlungsgruppen hinsichtlich des Ultraschall-Scores bestand kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Verbesserung und der Behandlungsgruppe. Über den Beobachtungszeitraum verbesserte sich der

Ultraschall-Score insgesamt in allen Gruppen. Zu Studienbeginn zeigte das Gesamtkollektiv im Median eine Läsion des Typs 2,5. Zum Zeitpunkt der ersten Kontrolluntersuchung (6 Wochen nach der Eingangsuntersuchung) bestand ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Dieser ist aber eher mit der unausgeglichenen, zufälligen Verteilung der Pferde bezüglich ihres Ultraschall-Scores zu erklären. So lagen in der Gruppe A im Median ein Score von 2,5, in Gruppe B ein Score von 3,0 und in der Gruppe C ein Score von 2,0 vor. Damit zeigte die Behandlungsgruppe B insgesamt die schlechtesten Ultraschallbefunde und die Gruppe C wies schon vor Behandlungsbeginn im Vergleich die besseren Scorewerte auf. Leider kam es im Rahmen des Randomisierungsprozesses nicht zu einer ausgeglichenen Verteilung und in der Folge stellten sich auch die Besserungsgrade unterschiedlich dar. Möglicherweise macht sich hier das Problem eines zu kleinen Stichprobenumfanges bemerkbar. Je kleiner der Stichprobenumfang ist, desto eher wird statistisch gesehen die Nullhypothese beibehalten. Auf der anderen Seite fällt aber bei der vergleichenden Betrachtung der Erkrankungsdauer auf, dass bei den Pferden in Gruppe B eine Erkrankung im Median seit 2,5 Monaten und damit im Vergleich am kürzesten bestand. So könnte der bestehende Unterschied außerdem - wie bereits oben erwähnt - mit der Dauer der Erkrankung in Verbindung gebracht werden.

### **5.3.10. Fragebogen**

Die Pferde wurden über einen Zeitraum von 3 Monaten persönlich betreut. Der Heilungsprozess und die Trainingsmaßnahmen sind allerdings nach diesem Zeitraum noch nicht abgeschlossen. Da einige Pferdebesitzer aber weite Strecken und mit ihren Pferden zum Teil Entfernungen von 404 km mit Auto und Pferdeanhänger zurückzulegen hatten, war eine längere direkte Beobachtung nicht vertretbar. Aus diesem Grund wurde 6 Monate nach der ersten Untersuchung zur Evaluierung des Heilungsverlaufes an jeden Pferdebesitzer ein Fragebogen verschickt. Von den 30 verschickten Fragebögen kamen 26 Stück ausgefüllt zurück. Obwohl die Pferdebesitzer während der Studie sehr viel Engagement zeigten und die Zusammenarbeit insgesamt sehr gut verlief, war es jedoch nicht möglich alle Fragebögen zurückzubekommen. Hingegen gab es auch einige Pferdebesitzer, die selbst nach 12 Monaten noch über den weiteren Verlauf ihres Pferdes berichteten.



Im Vorfeld bestanden von einigen Seiten Zweifel, dass die Pferdebesitzer ihr wertvolles Pferd für Studienzwecke zur Verfügung stellen, in der es unter Umständen in eine Kontrollgruppe mit Placebobehandlung eingetragen werden könnte. Die Auswertung der Fragebögen zeigte aber, dass die Pferdehalter ihre Teilnahme an der Studie in 96% als sehr gut bzw. gut bewerteten. Auch die größere Anzahl an Nachfragen als es Studienplätze gab, zeigte die gute Resonanz bei den Pferdebesitzern. Diese Studie zeigt also, dass die Durchführbarkeit solch konzipierter Studien sehr gut möglich ist.

Die Verlaufsinformationen der Besitzer ergaben, dass 80% der Pferde mit einer Läsion des M. interosseus medius lahmfrei waren, unabhängig von der angewandten Therapie. 39% der Pferde befanden sich zu diesem Zeitpunkt bereits wieder auf dem gleichen Leistungsstand wie vor der Erkrankung. Weitere 39% zeigten noch eine etwas schlechtere Leistung im Vergleich.

In der verfolgten Pferdegruppe traten insgesamt lediglich 2 Rezidive auf. So war es jeweils zu einem Rezidiv in der Behandlungsgruppe A und C gekommen. Das Pferd der Gruppe A zeigte bei der letzten Untersuchung nach 3 Monaten noch eine undeutlich geringgradige Lahmheit. 9 Monate nach Behandlungsbeginn war das Pferd lahmfrei und wieder völlig einsatzfähig. Dieser Zustand hielt 3 Monate an. Nach insgesamt 12 Monaten war es wieder in einer Pferdeklinik mit derselben Problematik vorstellig. Bei dieser 15-jährigen Stute bestand bei Studieneintritt eine Problematik des Fesselträgerursprunges bereits seit etwas über 12 Monaten. Es war das rechte Hinterbein betroffen. Solche Erkrankungen an der Hintergliedmaße gehen mit einer schlechteren Prognose als an der Vordergliedmaße einher (Lischer et al. 2006). Zudem ist das Auftreten von Rezidiven grundsätzlich hoch (Rijkenhuizen et al. 2007). Darüber hinaus war bei der betroffenen Gliedmaße eine deutliche Fehlstellung zu beobachten. Im Ultraschall stellte sich die Knochenhaut im Bereich der Läsion stark hyperechogen dar, was für eine sklerotische Veränderung dieser spricht und die Chronizität der vorliegenden Erkrankung widerspiegelt.

Das andere Pferd, bei dem es zu einem Rezidiv gekommen war, gehörte der Behandlungsgruppe C an. Bei Studieneintritt bestand bei dem 9-jährigen Wallach bereits seit 2 Jahren eine Fesselträgerursprungsproblematik. Auch bei diesem Pferd war die rechte Hintergliedmaße betroffen. Bei der ersten Untersuchung zeigte das Pferd eine mittelgradige Lahmheit. Diese passte nicht zu dem Befund der folgenden

Ultraschalluntersuchung. Nach 3 Monaten zeigte das Pferd zwar klinisch eine Verbesserung, war aber mit einer geringgradigen Lahmheit nicht gut. 6 Monate nach Studieneintritt berichtete die Besitzerin, dass ihr Pferd aufgrund der Fesselträgererkrankung nicht mehr reitbar wäre und auf der Wiese steht.

In beiden aufgetretenen Rezidivfällen lag ein chronischer Erkrankungszustand mit einer langen Krankheitsgeschichte vor. Diese Fälle verdeutlichen wiederholt die beschriebene schlechte Prognose einer solchen Erkrankung. Hingegen bleibt fraglich, ob bei dem Warmblutwallach der Gruppe C die im Ultraschall vorliegende Verdickung und Auflockerung des M. interosseus medius im proximalen Bereich die einzige Problematik dieses Pferdes war. Da sich die Schwere der Lahmheit mit den Befunden im Ultraschall nicht abschließend erklären ließ, liegt die Vermutung nahe, dass noch eine andere Erkrankung Ursache für die bestehende Lahmheit war.

Weiterhin berichteten zwei Pferdebesitzer der Gruppe C, dass ihre Pferde nach der Behandlung richtig aufgelebt sind. Die Pferde, mit einem fortgeschrittenen Alter von 20 und 22 Jahren, seien wieder viel aktiver und drehten richtig auf. Die Besitzerin eines jüngeren Pferdes (6 Jahre alt) sagte aus, dass ihr Pferd im Rahmen dieser Studie viel leistungsfähiger und durchlässiger geworden sei. Da tritt die Überlegung auf, ob die lokale Injektion mit MSC womöglich auch einen systemischen Effekt hat. Das Migrationspotential von MSC konnte in vitro bereits dargestellt werden (Goletz 2009). In den Untersuchungen von Schnabel et al. (2009) war der DNA - Gehalt in allen Sehnen gleich – unabhängig einer vorherigen MSC - Injektion. Dies lässt vermuten, dass die MSC entweder nicht an der Stelle bleiben oder den Entzündungszelleinstrom potentiell reduzieren. Guest et al. (2008) behaupten, dass die Zellen an der Stelle bleiben, wo sie injiziert wurden. Allerdings konnten in ihren Untersuchungen an der Injektionsstelle „nur“ 1000 Zellen gezählt werden, obwohl eine Million Zellen injiziert wurden. Es ist interessant zu klären, ob es zu einem Abbau oder einer möglichen Abwanderung der Zellen gekommen ist. Durgam et al. (2009) berichtet im Rahmen einer Studie ebenfalls von einer Abwanderung der injizierten Zellen. So waren diese nach der Injektion in kollagenaseinduzierte OBS - Schäden alle in einem Gebiet, nach 2 Wochen waren sie verschwunden und abgewandert. Im Falle einer tatsächlichen Abwanderung der Zellen, bleibt die spannende Frage zu klären, was mit den Zellen im Folgenden passiert. Barry et al. (2009) schildern die Wanderung von MSC nach Verabreichung in das geschädigte Gewebe bei Mäusen mit Myokardinfarkten. Signale in diesem Gewebe veranlassen

die Zellen dazu. Es handelt sich um eine *Chemotaxis* im Infarktgebiet. Möglicherweise kam es im Falle der hier vorliegenden Studienpferde auch zu einer Abwanderung der Zellen und einer folgenden Wirkung an anderen Stellen. Untersuchungen in diese Richtung und die Möglichkeit einer intravenösen Anwendung, wie es mit dem Wirkstoff *Hyaluronat-Natrium* zur Behandlung von Lahmheiten des Pferdes (verursacht durch nichtinfizierte Gelenksentzündungen) bereits durchgeführt wird, wären denkbar.

#### 5.4. Schlussfolgerungen

Die hier vorliegende kontrollierte klinische und sonographische Studie über den Einfluss von regenerativen Therapien auf das Heilungsverhalten des M. interosseus medius zeigt in allen Behandlungsgruppen eine deutliche Verbesserung. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen beobachtet werden. Auch die Ergebnisse der Verlaufsinformationen der Pferdebesitzer geben klinisch keinen Hinweis auf einen bestehenden Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen. So trat in der Placebogruppe ebenfalls eine deutliche klinische und sonographische Besserung auf. Eine denkbare Erklärung für das Vorliegen nicht – signifikanter Ergebnisse könnte – wie bereits von anderen Autoren beschrieben – im Bestehen der im Rahmen dieser Studie überwiegend chronischen Veränderungen zu finden sein. Zu diesem Zeitpunkt kann hierüber aber keine endgültige Aussage getroffen werden. Hierzu müssten im Folgenden in einer kontrollierten Studie das Heilungsverhalten von akuten und chronischen Schäden unter dem Einfluss der angewandten Therapien verglichen werden. Hier sei unter anderem zu bedenken, dass der bisher gewählte Weg zur Klärung des Therapieerfolges unter Umständen nicht ausreichend ist. Durch die klinische und sonographische Untersuchung ist nicht hinlänglich darzulegen, was in der Ultrastruktur passiert. Diese Frage kann nur mit Hilfe von ultrastrukturellen Untersuchungen über einen längeren Zeitraum geklärt werden. Die hier gemachten Beobachtungen schließen daher nicht aus, dass die Verwendung von regenerativen Techniken zu einer natürlichen Regeneration des geschädigten Gewebes führen und die Bildung von weniger belastbarem Ersatzgewebe möglicherweise vermieden werden kann.

Die Ergebnisse dieser Studie verdeutlichen aber die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen. Darüber hinaus zeigen sie, dass die Bedeutung und der Einfluss

eines kontrollierten Bewegungsaufbauprogrammes nicht unterschätzt werden dürfen. So ist ein solches Aufbauprogramm die wichtigste Maßnahme zur Verhinderung von Rezidiven.

Die gute Resonanz und die Zufriedenheit der Besitzer der an dieser Studie teilgenommenen Pferde zeigen die Durchführbarkeit solch konzipierte Studien. Selbst die 3malige Entnahme von Gewebeproben des M. interosseus medius zur weiteren ultrastrukturellen Untersuchung stellte kein Problem dar. So zeigt diese Studie nebenbei die unbedenkliche Durchführbarkeit der Übertragung der von Wagens (2000) entwickelten Biopsieentnahmetechnik aus der oberflächlichen und tiefen Beugesehne des Pferdes auf den M. interosseus medius.

Außerdem stellte sich die Herstellung des Thrombozytenkonzentrates PRP als einfach dar und die intraläsionale Injektion zeigte rein klinisch eine gute Verträglichkeit. Aufgrund der Ergebnisse dieser Studie scheint eine einmalige Behandlung mit PRP ausreichend zu sein.

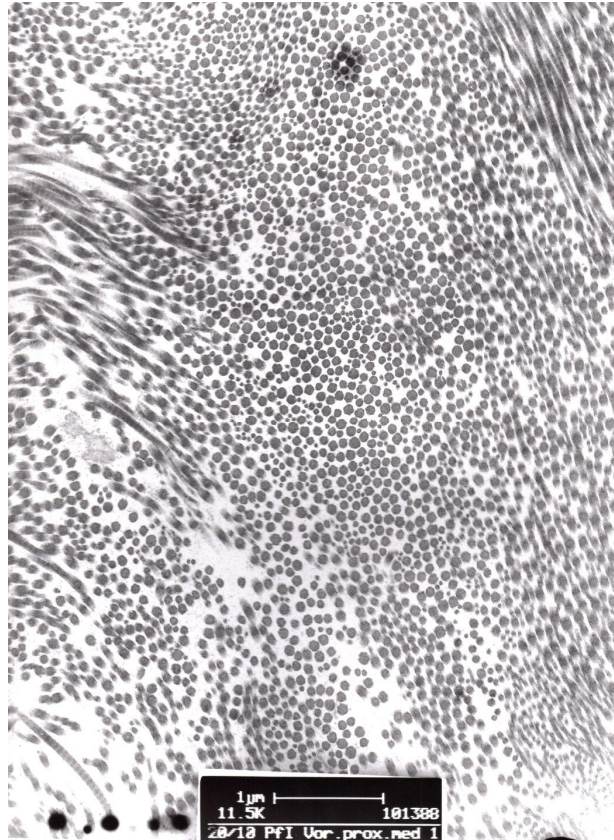
Ferner zeigte die allogene Übertragung von MSC klinisch eine gute Verträglichkeit. Es konnten klinisch keine erkennbaren Abwehrreaktionen beobachtet werden. Die exemplarisch durchgeführten Blutbilder zeigten ebenfalls keine besonderen Hinweise auf eine mögliche Abstoßungsreaktion. Aus rein immunologischer Sicht scheint demnach eine Behandlung mit allogenen MSC möglich zu sein.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse dieser Studie aber auch, dass über den Einsatz von regenerativen Therapiemaßnahmen beim Pferd noch großer Untersuchungsbedarf besteht. Hier steht vor allem auch die Struktur des M. interosseus medius im Mittelpunkt des Interesses. Über seinen Aufbau und seine Ultrastruktur ist noch viel zu wenig bekannt. Diese Informationen sind für eine optimal abgestimmte Therapie notwendig. So muss auch geklärt werden, welche Funktion die enthaltenen Muskelfasern haben und wie sich der individuell unterschiedliche Muskelanteil vererbt.

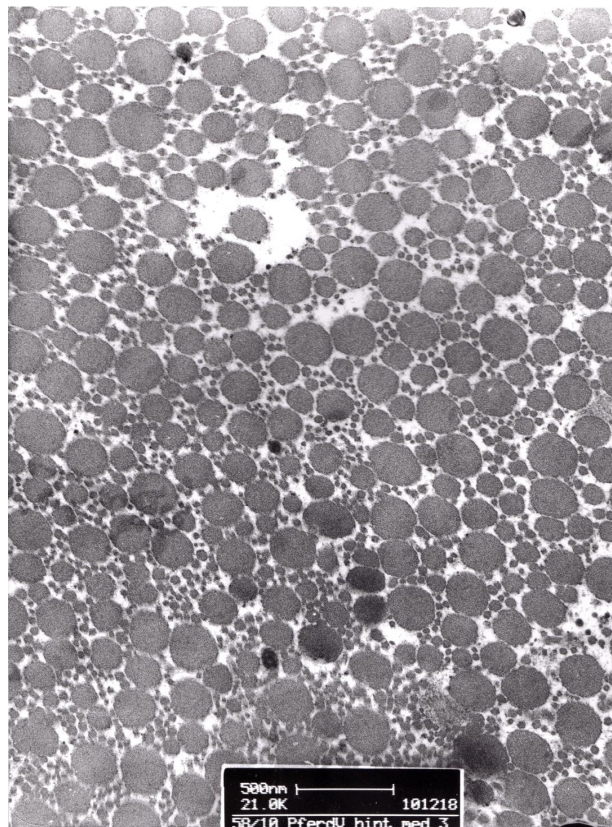
Darüber hinaus hat sich gezeigt, dass weiterer Untersuchungsbedarf hinsichtlich des optimalen Behandlungszeitpunktes von PRP und MSC, die Anzahl der Behandlungen, der Injektionsintervalle sowie der Langzeitwirkungen von MSC existiert.

## 5.5. Ausblick

Die im Rahmen dieser Studie entnommenen und gesammelten Biopsien sollen in einer nachfolgenden Arbeit unter dem Elektronenmikroskop auf ihre Ultrastruktur hin untersucht werden. Erste Schnitte und Untersuchungen sind bereits durchgeführt.



**Abb.54: exemplarische elektronenmikroskopische Abbildung eines gesunden M. interosseus medius des Pferdes an der Vordergliedmaße**



**Abb. 55: exemplarisches elektronenmikroskopisches Bild eines gesunden M. interosseus medius des Pferdes an der Hintergliedmaße**

Diese elektronenmikroskopische Untersuchung soll Aufschluss darüber geben, was im Rahmen der Anwendung von regenerativen Therapiemethoden *im* Gewebe passiert. Kommt es durch den Einfluss von MSC oder PRP zu einer Auffüllung der Läsion mit gleichwertigem Gewebe und zum Aufbau einer besseren, belastbareren „Narbe“ oder unterschieden sich die Behandlungsgruppen auch ultrastrukturell nicht von der Kontrollgruppe. Im Falle einer möglichen Auffüllung der Läsion mit ursprünglichem Gewebe unter dem Einfluss von MSC oder auch PRP wären solche Therapien Mittel der Wahl.

Eine Behandlung mit allogenen MSC würde dann viele Vorteile mit sich bringen. MSC zeigen eine geringe Immunität und haben immunmodulatorische Funktionen. Eine Anwendung von allogenen Zellen scheint aus rein immunologischer Sicht durchführbar zu sein. Die Möglichkeit der Verwendung von allogenen MSC wurde bereits auch bei anderen Spezies gezeigt (Ryan et al. 2005, Barry et al. 2009, Crovace 2009). Allerdings liegen bisher rein empirische Daten vor, die Anhaltspunkte dafür liefern, dass eine Anwendung von allogenen MSC beim Pferd ohne erkennbare

Abwehrreaktionen denkbar ist. Damit eine allogene Übertragung von MSC beim Pferd in Zukunft ohne Risiken oder Nebeneffekte möglich ist, sollte die Verträglichkeit und Unbedenklichkeit auch wissenschaftlich durch entsprechende Untersuchungen sichergestellt werden. Hier wäre als Untersuchung ein sogenannter *mixed-lymphocyte-reaction-test* anzuführen. Dieser Test hat vor allem eine Bedeutung in der Transplantationsimmunologie, da man mit diesem Test die Gewebeverträglichkeit von Spender und Empfänger feststellen kann.

Insgesamt besteht in diesem Feld der Pferdemedizin noch weiterer Untersuchungsbedarf.

## 6. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden kontrollierten Studie war es, das Heilungsverhalten des M. interosseus medius des Pferdes unter dem Einfluss von equinen MSC sowie PRP klinisch und sonographisch zu untersuchen und anhand einer Kontrollgruppe zu vergleichen. Ein weiterer Gegenstand der Untersuchung war es, die klinische Möglichkeit der Übertragung von allogenen MSC beim Pferd festzustellen. Die Verwendung von allogenen MSC könnte zu einer zeitnahen und risikoärmeren Behandlung von Sehnenschäden beim Pferd führen.

In der vorliegenden Studie wurden insgesamt 30 Pferde mit einer vordiagnostizierten Desmitis des Musculus interosseus klinisch sowie ultrasonographisch standardisiert untersucht. Die Pferdegruppe wurde randomisiert und auf diese Weise in 3 Behandlungsgruppen à 10 Pferden aufgeteilt. Die Pferde der Gruppe A wurden mit einem Placebo behandelt und dienten als Kontrollgruppe. Die Pferde der Gruppe B wurden mit Platelet Rich Plasma (PRP) behandelt. Das hergestellte autologe Thrombozytenkonzentrat aus dem entnommenen Pferdeblut wurde unter sterilen Bedingungen in die Läsionen in den Fesselträger injiziert. Zur Behandlung der Pferde der Gruppe C wurden adulte, allogene MSC verwendet. Diese wurden aus einem Sternumaspirat eines gesunden jungen Pferdes gewonnen. Im Labor des KMT im UKE Hamburg wurde das equine Knochenmark weiter verarbeitet und über mehrere Stufen passagiert. Die Zellen der Passagestufe p2 wurden in flüssigem Stickstoff bei  $-196^{\circ}\text{C}$  gelagert. Bei Bedarf wurden die kryokonservierten MSC 4-5 Tage vor der anstehenden Behandlung aufgetaut und aufbereitet. Dem zu behandelnden Pferd der Verum-Gruppe C wurden, unter Beachtung der sterilen Maßnahmen, 10 Millionen Zellen in die Läsion in den Fesselträger injiziert. Für jedes Pferd wurde ein Bewegungsplan entsprechend dem Grad und dem Alter der Verletzung erstellt. Im Abstand von 6 Wochen wurden die Pferde zwei Mal zur Nachkontrolle vorgestellt. Im Rahmen dieser Kontrolluntersuchungen wurden die Pferde standardisiert klinisch und ultrasonographisch untersucht. 6 Monate nach der ersten Untersuchung fand die Evaluation des Heilungsverlaufes mit Hilfe eines Fragebogens statt.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigten klinische und sonographische Verbesserung in allen Behandlungsgruppen. So trat in der Placebogruppe ebenfalls eine deutliche klinische und sonographische Besserung auf. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen. Diese Beobachtungen schließen



nicht aus, dass die Verwendung von regenerativen Techniken zu einer natürlichen Regeneration des geschädigten Gewebes führen und die Bildung von weniger belastbarem Ersatzgewebe möglicherweise vermieden werden kann. Die Ergebnisse dieser Studie wären bei akuten Fällen möglicherweise anders ausgefallen und verdeutlichen die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen. Andererseits zeigen sie, dass die Bedeutung und der Einfluss eines kontrollierten Bewegungsaufbauprogrammes nicht unterschätzt werden darf. So ist ein solches Aufbauprogramm die wichtigste Maßnahme zur Verhinderung von Rezidiven.

Aus rein immunologischer Sicht hingegen scheint eine Behandlung mit allogenen MSC möglich zu sein. In der hier vorliegenden Pferdegruppe konnten klinisch keine erkennbaren Abwehrreaktionen auf die allogenen MSC erfasst werden.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse dieser Studie aber auch, dass über den Einsatz von regenerativen Therapiemaßnahmen beim Pferd noch großer Untersuchungsbedarf besteht. Die in der Literatur beschriebene Verwendung dieser Therapien blieb oft ohne den gewünschten Effekt. Hier steht vor allem auch die Struktur des M. interosseus medius im Mittelpunkt des Interesses. Über seinen Aufbau und seine Ultrastruktur ist noch viel zu wenig bekannt. Diese Informationen sind für eine optimal abgestimmte Therapie notwendig.

## 7. Summary

The aim of this controlled study was to clinically and sonographically examine the influence of equine MSC and PRP on the healing process of equine suspensory ligaments. Allogeneic MSC were used for this research, therefore the clinical applicability of this product could be studied. The use of allogeneic MSC should lead to an early and less risky treatment concerning horses ligament injuries.

30 horses with pre-diagnosed suspensory ligament desmitis were included and clinically and ultrasonographically examined according to a standard protocol. The group of the horses was blinded randomized and divided into 3 groups à 10 horses. The horses of group A were treated with a placebo and served as control group. The horses of group B were treated with PRP. The autologous platelet concentrate was injected intralesional under sterile conditions into the suspensory ligament. For the treatment of group C allogeneic MSC were used. They were isolated from a bone marrow aspirate of a healthy young horse. In the laboratory of the KMT of UKE Hamburg the equine bone marrow of the sternum was processed and passaged above several labels. The cells of stage P2 were stored in liquid nitrogen at a temperature of  $-196^{\circ}\text{C}$ . If required the cryopreserved MSC were thawed and prepared 4-5 days before the treatment. The horses of verum-group C got an injection of 10 million cells into the ligament under consideration of sterile conditions. A controlled exercise program was worked out for each horse due to the duration and severity of its injury. At intervals of 6 weeks the horses were twice clinically and ultrasonographically examined. 6 months after the first examination the evaluation of the healing process took place by means of a questionnaire.

The results of this investigation indicated a clinical and ultrasonographically improvement in all groups. Even in the placebo-group there was a significant clinically and ultrasonographically improvement. There was no significant difference between the groups. These results do not exclude that the use of regenerative techniques leads to a natural regeneration of the injured cellular tissue and the formation of less burden substitute scar tissue can be avoided. The results of these studies could be different in case of acute injuries and show the necessity of further examination. Nevertheless they show that the meaning and influence of a controlled exercise program should not be underestimated and that such a program is the most important measure to avoid a recurrence.

The treatment with allogeneic MSC seems to be possible. In this study-group no significant defensive reaction concerning the allogeneic MSC could be noted.

All results of this study indicate that there is an enormous need of examination concerning regenerative therapies in the horse. The use of regenerative therapies as described in the literature may often be without the desired effect. Especially the structure of the suspensory ligament stands in the focus of interest. There is not enough information about its conditions and ultra-structure. These informations are necessary for an optimum therapy.

## Literaturverzeichnis

AGGARWAL, S.; PITTENGER, M. F. (2005):

Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses.

In: Blood, Jg. 105, H. 4, S. 1815–1822.

ARGÜELLES, D.; CARMONA, J. U.; CLIMENT, F.; MUÑOZ, E.; PRADES, M. (2008):

Autologous platelet concentrates as a treatment for musculoskeletal lesions in five horses.

In: The Veterinary record, Jg. 162, H. 7, S. 208–211.

ARNHOLD, S.; GOLETZ, I.; KLEIN, H.; STUMPF, G.; BELUCHE, L. A.; ROHDE, C. ET AL. (2007):

Isolation and characterization of bone marrow-derived equine mesenchymal stem cells.

In: American journal of veterinary research, Jg. 68, H. 10, S. 1095–1105

BARRY, F.; MURPHY, M.; DWYER, R.; O'BRIEN, T.; KAVANAGH, C.; DUFFY, G. (2009):

Stem cell therapy for tissue repair: the stem cell-host reaction,

In: Regenerative Medicine, Jg. 4(6), Suppl.2, S.11

BECKER C.K.; CHERDCHUTHAM W.; ENZERINK E.; SPEK E. R.; VAN WEEREN P. R. (2001):

A novel technique of taking tendon biopsies in the horse. A study on wound healing and the effect of exercise in immature superficial digital flexor tendons.

In: Vet Comp OrthopTraumatol, H. 14, S. 214–221.

BERTONE, A. L. (1996):

Equine tendinitis. Effect of basic fibroblast growth factor. An in vitro study of tendon healing.

In: Journal of equine veterinary science, H. 16, S. 16–17.

BIRCH, H. L.; RUTTER, G. A.; GOODSHIP, A. E. (1997A):

Oxidative energy metabolism in equine tendon cells.

In: Research in veterinary science, Jg. 62, H. 2, S. 93–97.

BIRCH, H. L.; WILSON, A. M.; GOODSHIP, A. E. (1997B):

The effect of exercise-induced localised hyperthermia on tendon cell survival.

In: The Journal of experimental biology, Jg. 200, H. Pt 11, S. 1703–1708.

BIRCH, H. L.; BAILEY, J. V.; BAILEY, A. J.; GOODSHIP, A. E. (1999):

Age-related changes to the molecular and cellular components of equine flexor tendons.

In: Equineveterinaryjournal, Jg. 31, H. 5, S. 391–396.

BISCHOFBERGER, A. S.; KONAR, M.; OHLERTH, S.; GEYER, H.; LANG, J.; UELTSCHI, G.; LISCHER, C. J. (2006):

Magnetic resonance imaging, ultrasonography and histology of the suspensory ligament origin: a comparative study of normal anatomy of warmblood horses.

In: Equine veterinary journal, Jg. 38, H. 6, S. 508–516.

BLOBEL, K.(1988):

Ein Beitrag zur Sehnenbehandlung bei Reit- und Trabrennpferden.

In: Praktischer Tierarzt, Jg. 1988, Ausgabe 69, S. 10–14.

BOSCH, U. (2003):

Tissue-Engineering zum Ersatz von Sehnen und Bändern.

In: German Medical Science, Jg. 11.

BOSCH, G.; MOLEMAN, M.; BARNEVELD, A.; VAN WEEREN, P. R.; VAN SCHIE, H. T. M. (2010A):

The effect of platelet-rich plasma on the neovascularization of surgically created equine superficial digital flexor tendon lesions.

In: Scandinavian journal of medicine & science in sports.

BOSCH, G.; VAN SCHIE, H. T. M.; GROOT, M. W. DE; CADBY, J. A.; VAN DE LEST, C. H. A.; BARNEVELD, A.; VAN WEEREN, P. R. (2010B):

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.

In: Journal of orthopaedic research: official publication of the Orthopaedic Research Society, Jg. 28, H. 2, S. 211–217.

BROWN, N. A. T.; PANDY, M. G.; KAWCAK, C. E.; MCILWRAITH, C. W. (2003):

Force- and moment-generating capacities of muscles in the distal forelimb of the horse. In: Journal of anatomy, Jg. 203, H. 1, S. 101–113.

BUCK, C. (2003):

Rasterelektronenmikroskopische Tendopathiediagnostik beim Pferd. Auswertung von Feinnadelbiopsaten.

Dissertation. Hannover. Tierärztliche Hochschule Hannover, Institut für Pathologie, Klinik für Pferde.

BUDRAS, K.-D.; RÖCK, S. (HG.) (2000):

Atlas der Anatomie des Pferdes. Lehrbuch für Tierärzte und Studierende.

4. Aufl. Hannover: Schlütersche GmbH & Co. KG.

BUKOWIECKI, C. F.; BRAMLAGE, L. R.; GABEL, A. A.(1987):

In vitro strength of the suspensory apparatus in training and resting horses. In: Veterinary surgery :

VS : the official journal of the American College of Veterinary Surgeons, Jg. 16, H. 2, S. 126–130.

CAPLAN, A. I. (1991):

Mesenchymal stem cells.

In: Journal Orthopedics Research, Jg. 9, S. 641-650

CAPLAN, A. I.; DENNIS, J. E. (2006):

Mesenchymal stem cells as trophic mediators.

In: Journal of cellular biochemistry, Jg. 98, H. 5, S. 1076–1084.

CAPLAN, A. I. (2007):

Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine.

In: Journal of cellular physiology, Jg. 213, H. 2, S. 341–347.

CHANG, J.; MOST, D.; STELNICKI, E. (1997):

Gene Expression of Transforming Growth Factor Beta-1 in Rabbit Zone II Flexor Tendon Wound Healing: Evidence for Dual Mechanism of Repair.

In: Plastic & Reconstructive Surgery, Jg. 100, S. 937-944



COHNHEIM, J. (1867):

Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologische Medizin, 40

COLAHAN, P. T. MERRITT A. M. MOORE J. N. MAYHEW G. (HG.) (1999):

Equine medicine and surgery. Diseases of the Metacarpus and Metatarsus.

2 Bände. St. Louis: Mosby (2).

COLLEONI, S.; BOTTANI, E.; TESSARO, I.; MARI, G.; MERLO, B.; ROMAGNOLI, N.  
ET AL. (2009):

Isolation, growth and differentiation of equine mesenchymal stem cells: effect of donor, source, amount of tissue and supplementation with basic fibroblast growth factor.

In: Veterinary research communications.

COPELAN, E.A. (2006):

Hematopoietic stem-cell transplantation.

In: N Engl J Med, Jg. 354, S. 1813-1826

CREVIER-DENOIX, N.; POURCELOT, P. (1997):

Additional research on tendon strains and stresses.

In: American journal of veterinary research, Jg. 58, H. 6, S. 569–570.

CROVACE, A.; LACITIGNOLA, L.; SIENA, R. DE; ROSSI, G.; FRANCIOSO, E. (2007):

Cell therapy for tendon repair in horses: an experimental study.

In: Veterinary research communications, Jg. 31 Suppl 1, S. 281–283.

CROVACE, A.; LACITIGNOLA, L.; FRANCIOSO, E.; ROSSI, G. (2008):

Histology and immunohistochemistry study of ovine tendon grafted with cBMSCs and BMMNCs after collagenase-induced tendinitis.

In: Veterinary and comparative orthopaedics and traumatology : V.C.O.T, Jg. 21, H. 4, S. 329–336.

CROVACE, A. (2009):

Experimental and clinical application of BMSCs for the treatment of large bone defects in animals.

In: Regenerative Medicine, Jg. 4(6), Suppl.2, S. 12

DAHLGREN, L. A.; NIXON, A. J.; BROWER-TOLAND, B. D. (2001):

Effects of beta-aminopropionitrile on equine tendon metabolism in vitro and on effects of insulin-like growth factor-I on matrix production by equine tenocytes.

In: American journal of veterinary research, Jg. 62, H. 10, S. 1557–1562.

DAHLGREN, L. A.; VAN DER MEULEN, M. C. H.; BERTRAM, J. E. A.; STARRAK, G. S.; NIXON, A. J. (2002):

Insulin-like growth factor-I improves cellular and molecular aspects of healing in a collagenase-induced model of flexor tendinitis.

In: Journal of orthopaedic research: official publication of the Orthopaedic Research Society, Jg. 20, H. 5, S. 910–919.

DAHLGREN, L. A.; MOHAMMED, H. O.; NIXON, A. J. (2005A):

Temporal expression of growth factors and matrix molecules in healing tendon lesions.  
In: Journal of orthopaedic research: official publication of the Orthopaedic Research Society, Jg. 23, H. 1, S. 84–92.

DAHLGREN, L. A.; NIXON, A. J. (2005B):

Cloning and expression of equine insulin-like growth factor binding proteins in normal equine tendon.

In: American journal of veterinary research, Jg. 66, H. 2, S. 300–306.

DAHLGREN, L.A. (2009):

Fat-derived mesenchymal stem cells for equine tendon repair.

In: Regenerative Medicine, Jg. 4(6), Suppl. 2, S. 14

DEL BUE M.; RICCÒ, S.; RAMONI, R.; CONTI, V.; GNUDI, G. AND GROLL, S. (2008):

Equine adipose-tissue derived mesenchymal stem cells and platelet concentrates: their association in vitro and in vivo.

In: Veterinary research communications, Jg. 32, S. 51–55.

DENOIX, J. M. (1994A):

Diagnostic techniques for identification and documentation of tendon and ligament injuries.

In: The Veterinary clinics of North America. Equine practice, Jg. 10, H. 2, S. 365–407.

DENOIX, J. M. (1994B):

Functional anatomy of tendons and ligaments in the distal limbs (manus and pes).

In: The Veterinary clinics of North America. Equine practice, Jg. 10, H. 2, S. 273–322.

DING, G.; LIU, Y.; AN, Y.; ZHANG, C.; SHI, S.; WANG, W.; WANG, S. (2010):

Suppression of T Cell Proliferation by Root Apical Papilla Stem Cells in vitro.

In: Cells Tissues Organs, Jg. 191, S. 357-364

DI NICOLA, M.; CARLO-STELLA, C.; MAGNI, M.; MILANESI, M.; LONGONI, P. D.; MATTEUCCI, P. ET AL. (2002):

Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli.

In: Blood, Jg. 99, H. 10, S. 3838–3843.

DIK, K. J.; VAN DEN BELT, A. J. (1991):

Ultraschallfehldiagnostik bei Sehnenkrankungen des Pferdes.

In: Pferdeheilkunde, H. 7, S. 83–90.

DOMINICI, M.; LE BLANC, K.; MÜLLER, I.; SLAPER-CORTENBACH, I.; MARINI, F.C.; KRAUSE, D.S.; DEANS, R.J.; KEATING, A.; PROCKOP, D.J.; HORWITZ, E.M. (2006):

Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement.

In: Cytotherapy, Jg. 8, S. 315-317

DOWLING, B.A.; DART, A.J.; HODGSON D. R.; SMITH R. K. W. (2000):

Superficial digital flexor tendonitis in the horse.

In: Equine Veterinary Journal, Jg. 32, S. 369-378

DRESSLER, M. R.; BUTLER, D. L.; BOIVIN, G. P. (2005):

Effects of age on the repair ability of mesenchymal stem cells in rabbit tendon.

In: Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society, Jg. 23, H. 2, S. 287–293.

DURANDO, M.M.; ZARUCCO, L.; SCHAER, T.P.; ROSS, M. AND REEF, V.B. (2006):

Pneumopericardium in a horse secondary to sterna bone marrow aspiration.

In: Equine Veterinary Education, Jg. 18, S.75-79

DURGAM, S.; STEWART, A.; CAPORALI, E.; KARLIN, W.; STEWART, M. (2009):

Effect of tendon-derived progenitor cells on a collagenase-induced model of tendinitis in horses.

In: Regenerative Medicine, Jg. 4(6), Suppl.2, S. 27

DYSON, S. (1991): PROXIMAL SUSPENSORY DESMITIS:

clinical, ultrasonographic and radiographic features.

In: Equine veterinary journal, Jg. 23, H. 1, S. 25–31.

DYSON, S. (1994):

Proximal suspensory desmitis in the hindlimb: 42 cases.

In: The British veterinary journal, Jg. 150, H. 3, S. 279–291.

DYSON, S. J.; Arthur, R. M.; Palmer, S. E.; Richardson, D. (1995):

Suspensory ligament desmitis.

In: The Veterinary clinics of North America. Equine practice, Jg. 11, H. 2, S. 177–215.

DYSON, S.; GENOVESE, R. L. (2002):

The Suspensory Apparatus.

In: Ross, M. W.; Dyson, S. J. (Hg.): Diagnosis and Management of Lameness in the Horse. USA: Saunders, S. 654–666.

DYSON, S. J. (2003):

Proximal metacarpal and metatarsal pain: a diagnostic challenge.

In: Equine Vet.Educ., H. 15, S. 134–138.

FACKELMAN, G. E. (1973):

The nature of tendon damage and its repair.

In: Equine veterinary journal, Jg. 5, H. 4, S. 141–149.

FORTIER, L. A.; NIXON, A. J.; WILLIAMS, J.; CABLE C. S. (1998):

Isolation and chondrocytic differentiation of equine bone marrow-derived mesenchymal stem cells.

In: American journal of veterinary research, H. 59, S. 1182–1187.

FORTIER, L. A.; SMITH, R. K. W. (2008):

Regenerative medicine for tendinous and ligamentous injuries of sport horses.

In: The Veterinary clinics of North America. Equine practice, Jg. 24, H. 1, S. 191–201.

FRIEDENSTEIN, A. J.; GORSKAJA, J. F.; KULAGINA, N. N. (1976):

Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs.

In: Exp. Hematol., Jg. 4, S. 267-274

FRISBIE, D. D.; SMITH, R. K. W. (2010):

Clinical update on the use of mesenchymal stem cells in equine orthopaedics.

In: Equine veterinary journal, Jg. 42, H. 1, S. 86–89.

GANSER, S. (1999):

Sehnenläsionen bei Sport- und Freizeitpferden, eine retrospective Studie anhand von Ultraschallbildern.

Dissertation. Zürich. Universität Zürich.

GENOVESE, R. L.; RANTANEN, N. W.; HAUSER, M. L.; SIMPSON, B. S. (1986):

Diagnostic ultrasonography of equine limbs.

In: The Veterinary clinics of North America. Equine practice, Jg. 2, H. 1, S. 145–226.

GEYER, H. (2006):

Beugesehnen und Fesselträger des Pferdes.

In: Newsletter Stiftung Forschung für das Pferd, Jg. 3, H. 16.

GIBSON, K. T.; STEEL C.M. (2002):

Conditions of the suspensory ligament causing lameness in horses.

In: Equine Vet.Educ., H. 14, S. 39–50.

GIEBEL, S.; LABOPIN, M.; HOLOWIECKI, J.; LABAR, B.; KOMARNICKI, M.; KOZA, V. ET AL. (2009):

Outcome of HLA-matched related allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for patients with acute leukemia in first complete remission treated in Eastern European centers. Better results in recent years.

In: Annals of hematology, Jg. 88, H. 10, S. 1005–1013.

GILLIS, C. L. (1997):

Rehabilitation of Tendon and Ligament Injuries,

In: AAEP Proceedings, Jg. 43, S. 306-309

GIOVANNINI, S.; BREHM, W.; MAINIL-VARLET, P.; NESIC, D. (2008):

Multilineage differentiation potential of equine blood-derived fibroblast-like cells.

In: Differentiation; research in biological diversity, Jg. 76, H. 2, S. 118–129.

GIRTLER, D. (2001):

Zur Biomechanik der Zehengelenke beim Pferd. Biomechanics of the digit in the horse. In: Pferdeheilkunde fundus, Jg. 17, H. 4, S. 357–360.

GOLETZ, I. (2009):

Isolierung und Charakterisierung equinermesenchymaler Stammzellen für einen möglichen Einsatz im Tissue Engineering.

Dissertation. Betreut von Prof.Dr.Dr. S. Arnhold. Gießen. Justus-Liebig Universität Gießen, Institut für Veterinäranatomie.



GOODSHIP, A. E.; BIRCH, H. L.; WILSON, A. M. (1994):

The pathobiology and repair of tendon and ligament injury.

In: The Veterinary clinics of North America. Equine practice, Jg. 10, H. 2, S. 323–349.

GOODSHIP, A. E.; BIRCH, H. L. (2001):

Exercise effects on the skeletal tissues.

In: Equine Locomotion, S. 227–250.

GUEST, D. J.; SMITH, M. R. W.; ALLEN, W. R. (2008):

Monitoring the fate of autologous and allogeneic mesenchymal progenitor cells injected into the superficial digital flexor tendon of horses: preliminary study.

In: Equine veterinary journal, Jg. 40, H. 2, S. 178–181.

GUEST, D. J.; SMITH, M. R. W.; ALLEN, W. R. (2010):

Equine embryonic stem-like cells and mesenchymal stromal cells have different survival rates and migration patterns following their injection into damaged superficial digital flexor tendon.

In: Equine veterinary journal, Jg. 42, H. 7, S. 636–642.

HALPER, J.; KIM, B.; KHAN, A.; YOON, J. H.; MUELLER, P. O. E. (2006):

Degenerative suspensory ligament desmitis as a systemic disorder characterized by proteoglycan accumulation.

In: BMC veterinary research, Jg. 2, S. 12.

HAUSER, M. L.; N.W.RANTANEN U. P.D. MODRANSKY (1982):

Ultrasound examination of distal interphalangeal joint, navicular bursa, navicular bone and deep digital tendon.

In: Journal of equine veterinary science, H. 2, S. 95–97.

HAUSER, M. L.; RANTANEN, N. W.; GENOVESE, R. L. (1984):

Suspensory desmitis: diagnosis using real-time ultrasound imaging.

In: Journal of equine veterinary science, H. 4, S. 258–262.

HAUSER, M. L. (1986):

Ultrasonographic appearance and correlative anatomy of the soft tissues of the distal extremities in the horse.

In: The Veterinary clinics of North America. Equine practice, Jg. 2, H. 1, S. 127–144.

HAYES, K. E. N. (1994):

Degenerative Disorder Strikes Suspensories,

In: Modern Horse Breeding, October, S. 24-27

HENNINGER R.W. BRAMLAGE L.R., BAILY M. BERTONE A. L. WEISBRODE S. E. (1992):

Effects of tendon splitting on experimentally-induced acute equine tendinitis.

In: Veterinary and comparative orthopaedics and traumatology : V.C.O.T, H. 5, S. 1–9.

HERTHEL, D. J. (2001):

Enhanced Suspensory Ligament Healing in 100 Horses by Stem Cells and Other Bone Marrow Components.

In: American Association of Equine Practitioners, Jg. 2001, Ausgabe 47, 2001.

HERTHEL, D. J. (2003):

Clinical use of stem cells and marrow components to stimulate suspensory ligament healing.

In: Mike W. Ross, Sue J. Dyson: Diagnosis and Management of Lameness in the horse, S. 673–674.

HOPPER, S. (2007):

Treatment Options for Hindlimb Proximal Suspensory Desmitis.

Veranstaltung von September/October 2007. Lexington, Kentucky. Veranstalter: Rood & Riddle Equine Hospital.

HORWITZ, E.M.; LE BLANC, K.; DOMINICI, M.; MÜLLER, I.; SLAPER-CORTENBACH, I.; MARINI, F.C. (2005):

Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement.

In: Cytotherapy, Jg. 7, S. 393-395

HU, X.; WANG, J.; CHEN, J. (2007):

Optimal temporal delivery of bone marrow mesenchymal stem cells in rats with myocardial infarction.

In: Eur J Cardiothorac Surg, Jg. 31, S. 438-443

HUSKAMP, B., NOWAK, M. (1988):

Insertionsdesmopathien beim Pferd und einige ihrer Lokalisationen.

In: Pferdeheilkunde, Jg. 4, S. 3-12

IONITA, J.-D. (2010):

Ausblick in die regenerative Medizin.

Veranstaltung vom 7.10.2010. Bonn. Veranstalter: Merial GmbH

JANSEN, M. O.; VAN BUITEN, A.; VAN DEN BOGERT, A. J.; SCHAMHARDT, H. C.  
(1993):

Strain of the musculusinterosseusmedius and its rami extensorii in the horse, deduced from in vivo kinematics.

In: Actaanatomica, Jg. 147, H. 2, S. 118–124.

JANSEN, M. O.; SCHAMHARDT, H. C.; VAN DEN BOGERT, A. J.; HARTMAN, W.  
(1998):

Mechanical properties of the tendinous equine interosseus muscle are affected by in vivo transducer implantation.

In: Journal of biomechanics, Jg. 31, H. 5, S. 485–490.

KAINER, R. A. (1989):

Funktionelle Anatomie des Bewegungsapparates.

In: Stashak, T. S. (Hg.): Adam's Lahmheiten bei Pferden. Deutsche Bearbeitung. 4. Aufl.  
Hannover: M. & H. Schaper GmbH, S. 38.

KALL, S.; NÖTH, U. (2004):

Strategien und Perspektiven des Tissueengineering zur Regeneration von Sehngewebe.

In: Journal der deutschen Gesellschaft für Plastische und Wiederherstellungschirurgie e.V., Jg. 16, H. 29, S. 49–53.

KASASHIMA, Y.; TAKAHASHI, T.; SMITH, R. K. W.; GOODSHIP, A. E.; KUWANO, A.; UENO, T.; HIRANO, S. (2004):

Prevalence of superficial digital flexor tendonitis and suspensory desmitis in Japanese Thoroughbred flat racehorses in 1999.

In: Equine veterinary journal, Jg. 36, H. 4, S. 346–350.

KLEIN, M. B.; YALAMANCHI, N.; PHAM, H.; LONGAKER, M. T.; CHANG, J. (2002):

Flexor tendon healing in vitro: effects of TGF-beta on tendon cell collagen production.

In: The Journal of hand surgery, Jg. 27, H. 4, S. 615–620.

KNUDSEN, O. (1976):

Percutaneous tendon splitting--method and results.

In: Equine veterinary journal, Jg. 8, H. 3, S. 101–103.

KOCH, T. G.; BERG, L.C.; BETTS, D. H. (2008):

Concepts for the clinical use of stem cells in equine medicine.

In: The Canadian veterinary journal. La revue vétérinairecanadienne, Jg. 49, H. 10, S. 1009–1017.

KOCH, T. G.; BERG, L.C.; BETTS, D. H. (2009):

Current and future regenerative medicine - principles, concepts, and therapeutic use of stem cell therapy and tissue engineering in equine medicine.

In: The Canadian veterinary journal. La revue vétérinaire canadienne, Jg. 50, H. 2, S. 155–165.

KOERNER, J.; NESIC, D.; ROMERO, J. D.; BREHM, W.; MAINIL-VARLET, P.; GROGAN, S. P. (2006):

Equine peripheral blood-derived progenitors in comparison to bone marrow-derived mesenchymal stem cells.

In: Stemcells (Dayton, Ohio), Jg. 24, H. 6, S. 1613–1619.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H.-G. (HG.) (2005):

Anatomie der Haussäugetiere.

Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis in einem Band. 3. Aufl. Stuttgart: Schattauer.

KÜNNEKE, A.; JAUGSTETTER, H. UND HEYERS, P. (2008):

Bonemarrow-autologous conditioned plasma (BM-ACP) beim Pferd – erste klinische Erfahrungen einer neuen, autologen Therapieform bei der Behandlung von Sehnenkrankungen des Pferdes.

In: Pferdeheilkunde 24, Jg. 4, S. 519–523.

LACITIGNOLA L; CROVACE A; ROSSI G; FRANCIOSO E (2008):

Cell therapy for tendinitis, experimental and clinical report.

In: Veterinary research communications, Jg. 32, H. 9, S. 33–38.

LANGE, C.; CAKIROGLU, F.; SPIESS, A.N.; CAPPALLO-OBBERMANN, H.; DIERLAMM, J.; ZANDER, A.R. (2007):

Accelerated and safe expansion of human mesenchymal stromal cells in animal serum-free medium for transplantation and regenerative medicine.

In: J Cell Physiol., Jg. 213, H. 1, S. 18-26.

LE BLANC, K.; TAMMIK, L.; SUNDBERG, B.; HAYNESWORTH, S. E.; RINGDÉN, O. (2003):

Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex.

In: Scandinavian journal of immunology, Jg. 57, H. 1, S. 11–20.

LEMPE, R. A. (2007):

Vergleichende magnetresonanztomographische Untersuchung am plantaren Aspekt des Tarsus des Pferdes – sonographische und histologische Korrelation des M. interosseusmedius an der Hintergliedmaße des Pferdes.

Dissertation. Leipzig. Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig, Chirurgische Tierklinik.

LISCHER, CH J.; BISCHOFBERGER, A. S.; FÜRST, A.; LANG, J.; UELTSCHI, G. (2006):

Disorders of the origin of the suspensory ligament in the horse: a diagnostic challenge.

In: Schweizer Archiv für Tierheilkunde, Jg. 148, H. 2, S. 86–97.

LISCHER, CH. J. (2010):

Ultraschalldiagnostik des Fesselträgers.

In: Pferdeheilkunde, Jg. 26, H. 3, S. 428-429

MARX, R. E. (2004):

Platelet – Rich Plasma: Evidence to Support its use.

In: Journal Oral Maxillofac. Surgery, H. 62, S. 489-496

MCCLELLAN, P. D. (1986):

A proposal for standardization in sonographic imaging I: metacarpus and metatarsus.

In: Equine Veterinary Science, Jg. 6, H. 6, S. 327–328.

MCCULLAGH, K. G.; GOODSHIP, A. E.; SILVER, I. A. (1979):

Tendon injuries and their treatment in the horse.

In: The Veterinary record, Jg. 105, H. 3, S. 54–57.

MCEWEN, C. R. (1991):

Tendon splitting and other treatments.

In: The Veterinary record, Jg. 129, H. 10, S. 227.

MCILWRAITH, C. W. (2002):

Erkrankungen der Gelenke, Sehnen, Bänder sowie ihrer Hilfseinrichtungen.

In: Ross, M. W.; Dyson, S. J. (Hg.): Diagnosis and Management of Lameness in the Horse. USA: Saunders, S. 447–448.



MEERSHOEK, L. S.; SCHAMHARDT, H. C.; ROEPSTORFF, L.; JOHNSTON, C. (2001):

Forelimb tendon loading during jump landings and the influence of fence height.

In: Equine veterinary journal. Supplement, H. 33, S. 6–10.

MERO, J.L.; POOL, R. (2002):

Twenty cases of degenerative suspensory ligament desmitis in Peruvian Paso horses.

In: Abstract for AAEP, Jg. 48, S. 329-334

MISHRA, A.; WOODALL, J.; VIEIRA, A. (2009):

Treatment of tendon and muscle using platelet-rich plasma.

In: Clinics in sports medicine, Jg. 28, H. 1, S. 113–125.

MÖLLER, H. D.; EVANS, C. H.; MAFFULLI, N. (2000):

Current aspects of tendon healing.

In: Der Orthopäde, Jg. 29, H. 3, S. 182–187.

MOUNTFORD, D.; SMITH, R. K. W.; PATTERSON-KANE, J. C. (2006):

Mesenchymale Stammzellbehandlung einer Fesselträgerentzündung: Pathoanatomische Befunde bei einem 10-jährigen russischen Warmblutwallach. Mesenchymal stem cell treatment of suspensory ligament branch desmitis: post mortem findings in a 10 year old Russian Warmblood gelding - a case report.

In: Pferdeheilkunde fundus, Jg. 22, H. 5, S. 559–563.

MOYER, W.; RAKER, C. W. (1980):

Diseases of the suspensory apparatus.

In: The Veterinary clinics of North America. Large animal practice, Jg. 2, H. 1, S. 61–80.

MURPHY, D. J.; NIXON, A. J. (1997):

Biochemical and site-specific effects of insulin-like growth factor I on intrinsic tenocyte activity in equine flexor tendons.

In: American journal of veterinary research, Jg. 58, H. 1, S. 103–109.

NICKEL, R.; SCHUMMER A.; SEIFERLE E. (HG.) (2001):

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere.

Bewegungsapparat. 6. Aufl. Berlin: Parey Buchverlag Berlin (1).

NIEMEYER, P.; SECKINGER, A.; SIMANK, H. G.; KASTEN, P.; SÜDKAMP, N.; KRAUSE, U. (2004):

Allogenic transplantation of human mesenchymal stem cells for tissue engineering purposes: an in vitro study.

In: Der Orthopäde, Jg. 33, H. 12, S. 1346–1353.

NILSSON, S.K.; SIMMONS, P. J. (2004):

Transplantable stem cells: home to specific niches.

In: Current opinion in hematology, Jg. 11, H. 2, S. 102–106.

OBERBECK, K. (1992):

Klinische und morphologische Untersuchungen von Tendopathien der Beugesehnen beim Pferd.

Dissertation. Hannover. Tierärztliche Hochschule Hannover.

PARK R. D.; NYLANDT T.G.; LATTIMER J. C.; MILLER C. W.; LEBEL J. L. (1981):

B-mode gray-scale ultrasound imaging artefacts and interpretation principles.

In: *vet Radiol Ultrasound*, H. 22, S. 204–210.

PATTERSON-KANE, J. C.; FIRTH, E. C.; PARRY, D. A.; WILSON, A. M.; GOODSHIP, A. E. (1998):

Effects of training on collagen fibril populations in the suspensory ligament and deep digital flexor tendon of young thoroughbreds.

In: *American journal of veterinary research*, Jg. 59, H. 1, S. 64–68.

PERKINS, N. R.; REID, S. W. J.; MORRIS, R. S. (2005):

Risk factors for injury to the superficial digital flexor tendon and suspensory apparatus in Thoroughbred racehorses in New Zealand.

In: *New Zealand veterinary journal*, Jg. 53, H. 3, S. 184–192.

PERSONET L.; MCALLISTOR S.M.; MANSMANN R. (1983):

Proximal suspensory desmitis.

In: *Modern veterinary practice*, H. 64, S. 541–545.

PITTENGER, M. F.; MACKAY, A. M.; BECK, S. C.; JAISWAL, R. K.; DOUGLAS, R.; MOSCA, J. D. ET AL. (1999):

Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells.

In: *Science (New York, N.Y.)*, Jg. 284, H. 5411, S. 143–147.

PLATT, D.; WILSON, A. (1994):

The role of biomechanics research in the understanding of equine lameness.

In: Equine veterinary journal, Jg. 26, H. 6, S. 435–436.

PROCKOP, D.J. (1997):

Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues.

In: Science, Jg. 276, S. 71-74

PSCHYREMBEL (1994):

Klinisches Wörterbuch, 257. Auflage, Walter de Gruyter, Berlin, S.186

PUGH; CR (1993):

A simple method to document the locatiion of ultrasonographically detected equine tendon lesions.

In: vet Radiol Ultrasound, H. 34, S. 211–212.

RANTANEN, N. W. (1986):

General considerations for ultrasound examinations.

In: The Veterinary clinics of North America. Equine practice, Jg. 2, H. 1, S. 29–32.

RANTANEN, N. W. (1993):

Proximal suspensory ligament injury.

In: Journal of equine veterinary science, H. 13, S. 443.

RAPP, H. J. (1997):

Sonographische Sehndiagnostik beim Pferd.

Atlas der Anatomie mit pathologischen Fallbeispielen. Stuttgart: Schattauer.

REEF, V. B. MARTIN B. B.; ELSER A. (1989):

Types of tendon and ligament injuries detected with diagnostic ultrasound: description and followup.

In: Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, H. 34, S. 245–248.

RIEMERSMA, D. J.; VAN DEN BOGERT, A. J.; JANSEN, M. O.; SCHAMHARDT, H. C. (1996A):

Influence of shoeing on ground reaction forces and tendon strains in the forelimbs of ponies.

In: Equine veterinary journal, Jg. 28, H. 2, S. 126–132.

RIEMERSMA, D. J.; VAN DEN BOGERT, A. J.; JANSEN, M. O.; SCHAMHARDT, H. C. (1996B):

Tendon strain in the forelimbs as a function of gait and ground characteristics and in vitro limb loading in ponies.

In: Equine veterinary journal, Jg. 28, H. 2, S. 133–138.

RIJKENHUIZEN, A. B. M.; GIETEMANN, I. V.; VAN DER REIJD, T. 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 in der Praxis.

In: Pferdeheilkunde fundus, Jg. 23, H. 4, S. 357–365.

ROONEY, J. R. (1973):

Functional anatomy of the equine suspensory ligament.

In: Modern veterinary practice, Jg. 54, H. 6, S. 43–45.

ROSENBROCK, A.; JACOBI, R.; PELLMANN, R.; JAUGSTETTER, H.; BREHM, W. (2004):

Der Einsatz der Übertragung autologen Knochenmarks in der Pferdeorthopädie.

In: DVG 18. Arbeitstagung der Fachgruppe "Pferdekrankheiten" Hannover 04./05.03.2004 .

RÜHMANN, K. (1999):

Makroskopische, licht- und elektronenmikroskopische Untersuchung von Sehnenbiopsaten und biopsierten Sehnen beim Pferd.

Dissertation. Hannover. Tierärztliche Hochschule Hannover.

RYAN, J. M.; BARRY, F. P.; MURPHY, J. M.; MAHON, B. P. (2005):

Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection.

In: Journal of inflammation (London, England), Jg. 2, S. 8.

SCHNABEL, L. V.; MOHAMMED, H. O.; MILLER, B. J.; MCDERMOTT, W. G.; JACOBSON, M. S.; SANTANGELO, K. S.; FORTIER, L. A. (2007):

Platelet rich plasma (PRP) enhances anabolic gene expression patterns in flexor digitorum superficialis tendons.

In: Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society, Jg. 25, H. 2, S. 230–240.

SCHNABEL, L. V.; SONEA, H. O.; JACOBSON, M. S.; FORTIER, L. A. (2008):

Effects of platelet rich plasma and acellular bone marrow on gene expression patterns and DNA content of equine suspensory ligament explant cultures.

In: Equine veterinary journal, Jg. 40, H. 3, S. 260–265.

SCHNABEL, L. V.; LYNCH, M. E.; VAN DER MEULEN, M. C. H.; YEAGER, A. E.; KORNATOWSKI, M. A.; 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.

In: Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society.

SCHNEIDER, J. (2006):

Tendinitis.

In: Dietz O., Huskamp B.:

Handbuch Pferdepraxis. Aufl. 3. Stuttgart: Verlag Enke; S. 928-933

SCHULTE W.V. (1969):

Zentrifugiertes Eigenblut zur Füllung großer Knochendefekte - eine Modifikation der Eigenblutmethode.

In: Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift, H. 24, S. 854–857.

SCHULZE, T.; BUDRAS, K.-D. (2008):

Zur klinisch-funktionellen Anatomie des M. interosseusmedius der Hintergliedmaße im Hinblick auf die Insertionsdesmopathie des Pferdes - Kernspin-, computertomographische und morphologische Untersuchungen. About the clinical and functional anatomy of the suspensory ligament (M. interosseusmedius) in the hind limb in relation to high suspensory desmitis of the horse.

In: Pferdeheilkunde fundus, Jg. 24, H. 3, S. 343–350.

SCHWARZKOPF, I. (2000):

Sonographische, magnetresonanztomographische und histologische Untersuchungen am Musculusinterosseusmedius des Warmblutpferdes.

Dissertation. Wien. Universität Wien.

SILBERSIEPE, E.; BERGE E.; MÜLLER H. (1986):

Die Entzündung der Beugesehnen, Tendinitis.

In: Lehrbuch der speziellen Chirurgie für Tierärzte und Studierende. 16. Aufl. Verlag Enke, Stuttgart, S. 317-325



SILVER, I. A.; BROWN, P. N.; GOODSHIP, A. E.; LANYON, L. E.; MCCULLAGH, K. G.; PERRY, G. C.; WILLIAMS, I. F. (1983):

A clinical and experimental study of tendon injury, healing and treatment in the horse.

In: Equine veterinary journal. Supplement, H. 1, S. 1–43.

SMITH, R. K.; JONES, R.; WEBBON, P. M. (1994):

The cross-sectional areas of normal equine digital flexor tendons determined ultrasonographically.

In: Equine veterinary journal, Jg. 26, H. 6, S. 460–465.

SMITH, R. K. W. (2002):

Pathophysiology of Tendon Injury.

In: Diagnosis and Management of lameness in the horse, S. 616-626

SMITH, R. K. W.; KORDA, M.; BLUNN, G. W.; GOODSHIP, A. E. (2003):

Isolation and implantation of autologous equine mesenchymal stem cells from bone marrow into the superficial digital flexor tendon as a potential novel treatment.

In: Equine veterinary journal, Jg. 35, H. 1, S. 99–102.

SMITH, J. J.; ROSS, M. W.; SMITH, R. K. W. (2006):

Anabolic effects of acellular bone marrow, platelet rich plasma, and serum on equine suspensory ligament fibroblasts in vitro.

In: Veterinary and comparative orthopaedics and traumatology : V.C.O.T, Jg. 19, H. 1, S. 43–47.

SMITH, R. K. W. (2008):

Mesenchymal stem cell therapy for equine tendinopathy.

In: Disability and rehabilitation, Jg. 30, H. 20-22, S. 1752–1758.

SOFFLER, C.; HERMANSON, J. W. (2006):

Muscular design in the equine interosseus muscle.

In: Journal of morphology, Jg. 267, H. 6, S. 696–704.

SPAULDING; K. (1984):

Ultrasonographic anatomy of the tendons and ligaments in the distal metacarpal - metatarsal region of the equine limb.

In: vetRadiol Ultrasound, H. 25, S. 155–166.

STADTBÄUMER, G.(1982):

Ultraschalldiagnostik bei Sehnenerkrankungen des Pferdes.

In: Pferdeheilkunde fundus, Jg. 1988, H. 4, S. 125–137.

STASHAK, T. S. (HG.) (1989):

Adam´sLahmheiten bei Pferden.

Deutsche Bearbeitung.

4. Aufl. Hannover: M. & H. Schaper GmbH.

STEYN, P. F.; MCILWRAITH, C. W. (1991):

The ultrasonographic examination of the palmar metacarpal tendons and ligaments of the equine digit: a review.

In: Equine Practice, H. 13, S. 24–34.

TAYLOR, S. E.; SMITH, R. K. W.; CLEGG, P. D. (2007):

Mesenchymal stem cell therapy in equine musculoskeletal disease: scientific fact or clinical fiction?

In: Equine veterinary journal, Jg. 39, H. 2, S. 172–180.

TIAN, Y.; DENG, Y. B.; HUANG, Y. J.; WANG, Y. (2008):

Bone marrow-derived mesenchymal stem cells decrease acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cells transplantation.

In: Immunollnvest, H. 37, S. 29–42.

UELTSCI, G. (1989):

Zur Diagnose von Interosseusläsionen an der Ursprungsstelle.

In: Pferdeheilkunde, Jg. 5, S. 65-69

URHAHNE, P. (2005):

Klinische Studie zur Behandlung häufiger Erkrankungen des Bewegungsapparates des Pferdes mittels fokussierter extrakorporaler Stoßwellentherapie (ESWT).

Dissertation. München. Ludwig-Maximilians-Universität, Innere Medizin und Chirurgie des Pferdes.

VAN WEEREN, R.; BOSCH, G. (2009):

Cell-based therapy without cells: the effect of platelet-rich plasma on the healing of artificially created tendon lesions in the horse.

In: Regenerative Medicine, Jg. 4(6), Suppl. 2, S. 28

WAGELS, R. (2000):

Die Biopsie der oberflächlichen und tiefen Beugesehne des Pferdes. Methodik und klinische Verlaufsuntersuchung.

Dissertation. Hannover. Tierärztliche Hochschule Hannover, Klinik für Pferde.

WASELAU, M.; SUTTER, W. W.; GENOVESE, R.L.; BERTONE, A. L. (2008):

Intralesional injection of platelet-rich plasma followed by controlled exercise for treatment of midbody suspensory ligament desmitis in Standardbred racehorses.

In: Journal of the American Veterinary Medical Association, Jg. 232, H. 10, S. 1515–1520.

WEBBON, P. M. (1973):

Equine tendon stress injuries.

In: Equine veterinary journal, Jg. 5, H. 2, S. 58–64.

WEBBON, P. M. (1979):

The racing performance of horses with tendon lesions treated by percutaneous tendon splitting.

In: Equine veterinary journal, Jg. 11, H. 4, S. 264–265.

WEBBON, P. M. (1982):

Preliminary study of tendon biopsy in the horse.

In: Equine veterinary journal, Jg. 18, H. 5, S. 383–387.

WEILER, H. (2000):

Insertionsdesmopathien beim Pferd – Ein Beitrag zur Orthologie und Pathologie von Sehnen-, Band- und Gelenkkapselverankerungen beim Pferd unter Berücksichtigung der Insertion des Funuculusnuchae an der Squamaoccipitalis. Berlin.

Freie Universität Berlin, FN-Verlag Deutsche Reiterliche Vereinigung

WEINBERGER, T. (2008):

Regenerative Therapiemöglichkeiten beim Pferd - eine Übersicht.

In: Pferde Spiegel, Jg. 03.

WHITMAN, D. H.; BERRY, R. L.; GREEN, D. M. (1997):

Platelet gel: an atologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery.

In: J. Oral Mixillofac. Surg., Jg. 55, S. 1294-1299

WILLIAMS, I. F.; HEATON, A.; MCCULLAGH, K. G. (1980):

Cell morphology and collagen types in equine tendon scar.

In: Research in veterinary science, Jg. 28, H. 3, S. 302–310.

WILLIAMS, I. F.; MCCULLAGH, K. G.; GOODSHIP, A. E.; SILVER, I. A. (1984A):

Studies on the pathogenesis of equine tendonitis following collagenase injury.

In: Research in veterinary science, Jg. 36, H. 3, S. 326–338.

WILLIAMS, I. F.; MCCULLAGH, K. G.; SILVER, I. A. (1984B):

The distribution of types I and III collagen and fibronectin in the healing equine tendon.

In: Connective tissue research, Jg. 12, H. 3-4, S. 211–227.

WILSON, D. A.; BAKER, G. J.; PIJANOWSKI, G. J.; BOERO, M. J.; BADERTSCHER, R. R. (1991):

Composition and morphologic features of the interosseous muscle in Standardbreds and Thoroughbreds.

In: American journal of veterinary research, Jg. 52, H. 1, S. 133–139.

WILSON, A. M.; MCGUIGAN, M. P.; SU, A.; VAN DEN BOGERT, A. J. (2001):

Horses damp the spring in their step.

In: Nature, Jg. 414, H. 6866, S. 895–899.

WOOD, A. K.; NEWELL, W. H.; BORG, R. P. (1991):

An ultrasonographic off-set system for examination of equine tendons and ligaments.

In: American journal of veterinary research, Jg. 52, H. 12, S. 1945–1947.

WOOD, A. K.; SEHGAL C.M.; POLANSKY M. (1993):

Sonographic brightness of flexor tendon and ligaments in the metacarpal region of horses.

In: American journal of veterinary research, H. 54, S. 1969–1974.

WORSTER, A. A.; NIXON, A. J.; BROWER-TOLAND, B. D.; WILLIAMS, J. (2000):

Effect of transforming growth factor beta1 on chondrogenic differentiation of cultured equine mesenchymal stem cells.

In: American journal of veterinary research, Jg. 61, H. 9, S. 1003–1010.

XUE, Q.; LUAN, X.; GU, Y.; WU, H.; ZHANG, G.; YU, G.; ZHU, H.; WANG, M.; DONG, W.; GENG, Y.; ZHANG, X. (2010):

The negative Co-Signaling Molecule B7-H4 Is Expressed by Human Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells and Mediates its T-Cell Modulatory Activity.

In: Stem Cells and Development, Jg. 19, H. 1, S. 27-38

YOUNG, J.H. (1993):

Degenerative Suspensory Ligament Desmitis.

In: Hoofcare Lameness, Jg. 61, S. 6-19

ZACHOS, T. A.; BERTONE, A. L. (2005):

Growth factors and their potential therapeutic applications for healing of musculoskeletal and other connective tissues.

In: American journal of veterinary research, Jg. 66, H. 4, S. 727–738.

**Rehabilitations Protokoll bei Sehnenschäden (modifiziert nach Gillis 1996)****Tabelle 1** Trainingsprotokoll nach der 1. Untersuchung (0 – 90 Tage). Pferd steht in der Box

<b>Verletzung</b>	<b>0 – 30 Tage</b>	<b>30-60 Tage</b>	<b>60 – 90 Tage</b>
Geringgradig	Führen 2 X 15 min.	Führen 40 min.	Reiten 20 –30 min
Mittelgradig	Dito	Dito	Führen 60 min.
Hochgradig	Dito	Führen 30 min.	Führen 40 min

**Tabelle 2** Trainingsprotokoll nach der 2. (Ultraschall-) Untersuchung (90 – 180 Tage). Pferd steht in der Box

<b>Heilungsfortschritt</b>	<b>90 – 120 Tage</b>	<b>120 – 150 Tage</b>	<b>150 – 180 Tage</b>
Gut	30 min. Schritt reiten	45 –60 min. Schritt reiten, auch Lektionen	Alle 2 Wochen 5 min. traben hinzufügen, geradeaus
Ausreichend	Dito	Dito	Schritt reiten 60 min.
Schlecht	60 min führen	Schritt reiten 20 – 30 min	60 min. Schritt reiten, auch Lektionen

**Tabelle 3** Trainingsprotokoll nach der 3. (Ultraschall-) Untersuchung (180 – 270 Tage). Pferd steht in der Box

<b>Heilungsfortschritt</b>	<b>180 – 210 Tage</b>	<b>210 – 240 Tage</b>	<b>240 – 270 Tage</b>
Gut	Alle 2 Wochen 5 min Galopp hinzufügen, erst das nicht lahme Bein belasten, traben auch auf dem Zirkel, allmählich mehr Lektion und Versammlung. Nicht longieren.		Normales Training außer Rennen, Geschwindigkeitsarbeit und springen Keine engen Wendungen!
Ausreichend	Alle 2 Wochen 5 min. traben hinzufügen		Alle 2 Wochen 5 min Galopp hinzufügen
Schlecht	Fall neu untersuchen + andere Behandlung besprechen		

**Tabelle 4** Trainingsprotokoll nach der 4. (Ultraschall-) Untersuchung (270 – 360 Tage).

<b>Heilungsfortschritt</b>	<b>270 – 300 Tage</b>	<b>300 – 330 Tage</b>	<b>330 – 360 Tage</b>
Gut	Renntempo und Springen beginnen. Alle Lektionen.	Wettkampf	Dasselbe
Ausreichend	Alle 2 Wochen 5 min Galopp hinzufügen, erst das nicht lahme Bein belasten, traben auch auf dem Zirkel, allmählich mehr Lektion und Versammlung. Nicht longieren.	Normales Training außer Rennen, Geschwindigkeitsarbeit und springen. Keine engen Wendungen.	Renntempo und Springen beginnen
Schlecht	Fall neu untersuchen + andere Behandlung besprechen		



## Fragebogen

# "Fesselträgerstudie"



Sehr geehrte Pferdebesitzer,

zuerst einmal möchten wir uns an dieser Stelle noch einmal herzlich für das uns entgegengebrachte Vertrauen bedanken sowie für die Teilnahme an der Studie.

Der Heilungsprozess und die Trainingsmaßnahmen sind nach 3 Monaten noch nicht abgeschlossen. Wir interessieren uns aber persönlich und auch wissenschaftlich für den weiteren Verlauf. Daher wollen wir jetzt, 6 Monate nach der ersten Untersuchung – wie besprochen – auf diesem Weg erfahren, wie es Ihrem Pferd geht.

Pferdebesitzer (Name)

Pferd (Name)

Bewerten Sie auf einer Skala (mehrfache Kreuze sind möglich!)				
1	2	3	4	5

1.) Wie ist der Heilungsverlauf Ihres Pferdes?	Sehr gut	gut	unverändert	schlecht	sehr schlecht
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

2.) Ist das Pferd auf der betroffenen Gliedmaße zum jetzigen Zeitpunkt lahm?	deutlich	mittelgradig	gering	Takt unrein	Nein (weiter mit Frage 7)
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

3.) Wie hat sich die Lahmheit seit der letzten Kontrolluntersuchung verändert?	besser (weiter mit Frage 5)		unverändert (weiter mit Frage 5)		schlechter (weiter mit Frage 4)
	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

4.) Sind Zwischenfälle aufgetreten, die Ursache hierfür sein könnten?	Trauma durch unkontrollierte Bewegung (z.B. Bocken)	Unbekannt nach Weidegang	"Überbelastung" im Verlauf des Reha-Programms	"Überbelastung" durch Überschreiten des Reha-Programms	Keine Ursache bekannt
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

5.) Verändert sich die Lahmheit durch die Bewegung des Pferdes?	besser		unverändert		schlechter
	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

6.) Beeinflusst die Belastung die Lahmheit? Verschlechterung des Bewegungsablaufes durch:	harten Boden	weichen Boden	Reiten	Wendung	Kein Einfluss
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

7.) Zeigt das betroffene Bein im Bereich des Fesselträgers eine Schwellung?	sehr stark	stark	mittel	leicht	Nein (weiter mit Frage 10)
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

8.) Falls ja, ist das Bein im Bereich der Schwellung warm?	sehr warm	warm	mittel	leicht	nein
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

9.) Ist das Bein in diesem Bereich schmerzhaft?	sehr stark	stark	mittel	leicht	nein
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

10.) Wie ist das Leistungsniveau Ihres Pferdes im Vergleich zum Status vor der Erkrankung?	gleich	etwas schlechter	viel schlechter	unreitbar	Euthanasie/ Schlachtung
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

11.) Bewerten Sie Ihre Teilnahme an der Studie positiv?	Sehr gut	gut	mittel	schlecht	sehr schlecht
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<b>Kommentar:</b>

Bitte senden Sie den ausgefüllten Fragebogen per E-Mail an [fesseltraegerstudie@gmx.net](mailto:fesseltraegerstudie@gmx.net) zurück oder schicken Sie ihn an folgende Adresse:

**Tierärztliche Gemeinschaftspraxis für Pferde  
Quickborner Straße 84  
25494 Borstel-Hohenraden**

Bei Fragen oder Problemen können Sie sich jederzeit unter oben genannter E-Mail-Adresse oder unter ☎0177-4123776 mit mir in Verbindung setzen.

Vielen Dank für Ihre Unterstützung und Mitarbeit!

Melanie Banse  
(Doktorandin)

## Danksagung

Zum Schluss dieser Arbeit möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Dr. Stefan Arnhold für die Übernahme der Doktorvaterschaft und die Unterstützung während der Arbeit bedanken.

Meiner externen Doktormutter Frau Prof. Dr. med. Ute Lockemann danke ich für die freundliche Unterstützung und Hilfestellung in allen organisatorischen Fragen sowie für die stets aufbauenden Worte.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. Dr. Christina Becker für ihre fachliche Betreuung, ihre herausragende Unterstützung, die vielen Anregungen und die stets gründlichen und durchdachten Korrekturvorschläge. Vielen Dank auch für die Überlassung dieses interessanten Themas, für das in mich gesetzte Vertrauen und vor allem für die sehr lehrreiche, unvergessliche Zeit.

Frau PD Dr. Claudia Lange danke ich für die herzliche und kompetente Einarbeitung im Labor und die fachliche Betreuung bei MSC-Fragen.

Frau Andrea Großer und Herrn Eik Vettorazzi, die mir mit Geduld und fachlicher Beratung zur Seite standen, danke ich herzlich für die Einführung in die Anwendung der statistischen Software sowie für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Allen Mitarbeitern der Gemeinschaftspraxis Dr. Becker und Dr. Leser möchte ich für die kollegiale und freundliche Zusammenarbeit danken. Hier gilt mein besonderer Dank Pia Hinrichs für ihren immer verfügbaren fachlichen und emotionalen Beistand.

Außerdem möchte ich mich bei allen Pferdebesitzern für das uns entgegengebrachte Vertrauen sowie für die Teilnahme an der Studie bedanken. Ohne die Bereitstellung ihrer Pferde wären diese Untersuchungen und die Dissertation nicht möglich gewesen.

Meiner Mutter danke ich ganz herzlich für die jederzeit zur Verfügung stehende Hilfe bei formalen Fragen während der gesamten Arbeit sowie für die Rechtschreibe- und Grammatik-Überprüfung. Meiner Kusine Miriam gilt mein Dank für das gründliche und kritische Korrektur lesen.

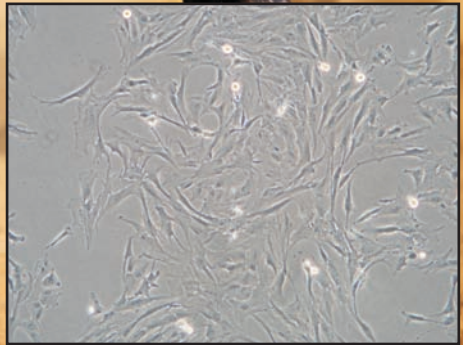
Meiner Familie und Freunden möchte ich für den bedingungslosen Rückhalt, das stete Vertrauen in mich und die motivierenden aber auch mahnende Worte danken.

## **Erklärung**

Ich erkläre hiermit: ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Willich, den 13.12. 2010

Melanie Banse



*edition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

VVB LAUFERSWEILER VERLAG  
STAUFENBERGRING 15  
D-35396 GIESSEN

ISBN: 978-3-8359-5777-0

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de



Cover Foto: © Rade Lukovic - Fotolia.com

9 783835 195770