



Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Hippologenheten

Seminariekurs i hästens biologi, 5 hp

2015

**Stamcellsbehandling av ytliga böjsenaskador på häst**

*Hanna Danewid*

**Strömsholm**

**HANDLEDARE:**

*Nina Roepstroff, Strömsholm*

---

Seminariekurs i hästens biologi (HO0084) är en obligatorisk del i hippologutbildningen och syftar till att ge de studerande grundläggande träning i att självständigt och på ett vetenskapligt sätt kunna analysera och relatera olika värden, samt redogöra för uppgift skriftligt och muntligt. Föreliggande arbete är således ett studentarbete på A-nivå och dess innehåll, resultat och slutsatser bör bedömas mot denna bakgrund.

## **INNEHÅLL**

REFERAT .....	3
INLEDNING .....	3
Introduktion .....	3
Syfte .....	4
Problemställning.....	4
Frågeställning .....	4
LITTERATURSTUDIE .....	4
Behandling med mesenkymala stamceller från navelsträng .....	4
Behandling med mesenkymala stamceller från benmärg .....	5
Behandling med mesenkymala stamceller från fettvävnad.....	5
Mesenkymala eller embryonala stamceller? .....	6
DISKUSSION .....	6
Slutsats .....	7
REFERENSER.....	8
Litteratur.....	8
Internet .....	8

## **REFERAT**

Senskador är idag en vanlig orsak till hälta bland sporthästar. Vid skador på ytliga böjsenan bildas ärrvävnad som har försämrade egenskaper jämfört med den friska senan, vilket kan resultera i att senans hållbarhet försämras. Stamceller har en unik förmåga att differentiera till andra typer av celler och kan på så vis generera ny frisk senvävnad vilket med fördel har använts vid senskador. Syftet med litteraturstudien är att utvärdera stamceller som behandlingsform vid senskador. Frågeställningen som ställs är hur stamcellsbehandling fungerar jämfört med andra behandlingsmetoder.

I enlighet med de studier som den här litteraturstudien är baserad på är prognosen för användande av stamceller vid skador på böjsenorna god. I jämförelse med kontrollgrupp behandlad med saltlösning visade resultatet på en bättre läkningsprocess i vävnad som blivit behandlad med stamceller jämfört med kontrollgruppens. Främst framsteg har uppmärksammats vid behandling av skador på ytliga böjsenan. Slutsatsen är att stamceller som behandlingsform vid senskador ger en förbättrad, regenerativ läkning av den skadade vävnaden.

## **INLEDNING**

### **Introduktion**

Senskador drabbar alla typer av sporthästar och är globalt sett en av de vanligaste orsakerna till hälta hos häst (Reed et al. 2013). Vid skador på djupa och ytliga böjsenan bildas ärrvävnad i läkningsfasen som har försämrade egenskaper jämfört med den friska senan (Frisbie et al. 2010). Vid traditionell behandling kyls skadan i det akuta stadiet och hästen blir ofta behandlad med smärtstillande och antiinflammatoriskt. Hästen ordinerar boxvila och följs sedan av ett individuellt träningsprogram. Frisbie et al. (2010) hävdar att det vid behandlingsmetoder som ger en reparativ läkeprocess av vävnaden är det inte ovanligt att hållbarheten och funktionen hos den nya senan är sämre än hos den ursprungliga. (Richardson et al. 2007).

Stamceller är unika celler som kan omvandlas till andra typer av kroppsceller och inte enbart kopior av sig själva (Taylor et al. 2010). Samma författare skriver att stamceller hos en vuxen individ kan endast dela sig till ett begränsat antal celltyper, till skillnad från de i ett tidigt embryo. Dessa stamceller är pluripotenta, det vill säga de kan producera flera olika celltyper då de har som uppgift att konstruera alla delar i kroppen (Taylor et al. 2010). De kallas för embryonala stamceller och är de stamceller som utgör det allra första stadiet i ett embryos utveckling. Embryonala stamceller är allogena, det vill säga att de kommer från annan donator. Mesenkymala stamcellerna är autologa, vilket innebär att vid behandling används hästens egna celler. Mesenkymala stamceller, bindvävsstamceller, är adulta stamceller. Dessa finns i benmärg, navelsträng samt i fettvävnad och kan bilda ben-, brosk-, sen- samt fettceller (Nationella forskningsportalen, 2009).

Tidigare studier har observerat embryonala stamcellers möjlighet att förnya och föröka sig i olika vävnader, vilket kan resultera i risk för till exempel tumörbildningar (Guest et al. 2010). Det finns alltid en infektionsrisk vid den här typen av behandling. De stamceller som är allogena riskerar att bära med sig smittsamma sjukdomar (Fortier, 2005).

Tidpunkten för stamcellstransplantationen vid en senskada är kritisk. Enligt studier bör transplantationen ske inom en månad från skadetillfället eftersom inflammationen bör ha lagt sig men ärrvävnad har ej börjat bildas (Taylor et al. 2010). Samma författare skriver även att en sena som tidigare varit skadad är svårare att behandla då det redan existerar ärrvävnad.

## **Syfte**

Syftet med denna litteraturstudie är att utvärdera stamceller som behandlingsform vid skador på ytliga böjsenan hos häst.

## **Problemställning**

Vid behandlingsmetod som ger en reparativ läkeprocess av vävnaden är det inte ovanligt att hållbarheten och funktionen hos den nya senan är sämre än hos den ursprungliga. En behandlingsmetod som regenererar vävnaden istället för enbart reparera den är därför önskvärd. (Richardson et al. 2007).

## **Frågeställning**

Hur ser behandlingsresultatet med stamcellsbehandling ut vid skador på ytliga böjsenan hos häst?

## **LITTERATURSTUDIE**

### **Behandling med mesenkymala stamceller från navelsträng**

Enligt Van Loon et al. (2014) har hästar med skada på ytliga böjsenan god prognos vid behandling med stamceller. På två hästkliniker mellan 2009 och 2012 genomfördes en klinisk studie på 52 stycken sporthästar (dressyr- och hopphästar på nationell eller internationell nivå) i blandade åldrar från 5-15 år, med ligament- eller böjseneskador varav ingen av dessa tidigare hade varit behandlade. I studien användes stamceller utvunna ur vävnad från navelsträng på friska föl. I studien ingick även en kontrollgrupp bestående av tre hästar med liknande skador på böjsenan som fick traditionell behandling. Efter behandling fick alla hästar ett standardiserat träningsprogram med en veckas boxvila med promenad för hand. Vecka två till sex innehöll trav i intervaller och därefter återbesök. Om resultatet inte var tillfredsställande fick hästen en ny injektion med samma typ av stamceller, annars var nästa steg galopp och tillbaka till tidigare arbete. Av de 52 hästarna behövde 47 stycken endast en behandling. Inom sex månader var 40 av hästarna tillbaka på samma tävlingsnivå som de tidigare befunnit sig på eller högre. Skadans struktur, det vill säga omfattningen och typ av skada, var inte signifikant för behandlingens resultat. Hästarnas ålder som varierade mellan fem och femton år, var inte heller en faktor som var signifikant som påverkade slutresultatet. Av kontrollgruppen var det två av de tre hästarna, varav en med skada på ytliga böjsenan, som åter var på samma tävlingsnivå efter sex månader. (Van Loon et. al 2014).

## **Behandling med mesenkymala stamceller från benmärg**

Godwin, et. al genomförde 2010 en klinisk studie på 141 galopphästar med övertänjningsskador på ytliga böjsenan. Dessa hästar blev behandlade med stamceller från benmärg och fick enbart behandling vid ett specifikt tillfälle. Dock kunde behandlingen innehålla flera injektioner beroende på skadans storlek. Godwin et. al (2010) använde sig av ett 48 veckors långt rehabiliteringsprogram, där de första åtta månaderna enbart innehöll skritt och trav. Hästarna undersöktes med ultraljud var tredje månad där rehabiliteringsprogrammet i sin tur kunde redigeras beroende på hur resultatet såg ut. Tre år efter behandlingstillfället, det vill säga minst två år efter att hästarna hade återvänt till full träning, gjordes en uppföljning av 113 hästar. Resultatet visade att 111 stycken hade återvänt till galoppbanan och av dessa hade det uppstått ny senskada hos 31 stycken på det behandlade benet och ytterligare 6 stycken hade fått skada på det kontralaterala benet.

I studie gjord av Smith et al. (2013) avlivades sex hästar ett halvår efter behandling med benmärgsstamceller och senornas strukturella styvhet analyserades. Dessa hästar var alla drabbade av allvarliga senskador, max två månader gamla som gjort att deras karriär avslutats. Rehabiliteringsprogrammet som användes var en veckas boxvila, sedan skritta i tre månader mellan 10-45 min och därefter la man till travarbete. Hästarna motionerades i skrittmaskin. En kontrollgrupp bestående av ytterligare sex hästar, som också avlivades efter sex månader, utan betydlig skillnad varken i ålder eller behandlingstidpunkt, blev behandlad med saltlösning vid samma tidpunkt och resultaten jämfördes. De stamcellsbehandlade senorna visade en tydlig läkeförbättring jämfört med kontrollgruppens. De stamcellsbehandlade senorna hade lägre strukturell styvhet ( $p=0,05$ ).

## **Behandling med mesenkymala stamceller från fettvävnad**

I Guercio et. al (2014) studie använde man sig av stamceller utvunna ur fettvävnad. Stamceller från underhudsfett hos nio sporthästar med skada på ytliga böjsenan injicerades i det skadade området. Hästarna genomgick ett rehabiliteringsprogram under sex månader där de fick massage och stretchning i början av rehabiliteringen samt skoningsåtgärder för att avlasta senorna. Hästarna motionerades sedan på fast underlag de första tre månaderna varav de två första månaderna bestod av skritt för hand. Från tredje månaden lades det till trav under ryttare på hårt underlag, för att från fjärde månaden lägga till galopp på mjukare underlag. Efter sex månader, när hästarna ansågs vara tillbaka i fullt arbete, undersöktes hästarna på nytt och resultaten analyserades (Guercio et. al, 2014). Resultatet i Guercio et. al (2014) studie visade vid ultraljudsundersökning tecken på en regenerativ process av bildande av vävnad som var jämförbar med frisk senvävnad. Innan behandlingen ultraljudsundersöktes samtliga hästar och uppmättes ha en tregradig senskada på en skala mellan 0-5, men redan 30 dagar efter implantationen var skadan tvågradig. Efter 60 dagar hade skadan minskat ytterligare och uppmättes vara engradig. Full anpassning av vävnadens fibrer registrerades 120 dagar efter behandlingen. Sju av de nio hästarna visade ett positivt resultat på behandlingen. En av de två hästarna som påvisade negativt resultat i studien återgick redan en månad efter behandlingen till full aktivitet, vilket resulterade i återfall. Den andra hästen åtföljdes av en ny senskada som inte var belägen på samma ställe.

## Mesenkymala eller embryonala stamceller?

I en studie av Guest et al. 2010 skrivs det i hypotesen att tumörbildningar osannolikt bildas vid användandet av embryonala stamceller. Denna hypotes var baserad på tidigare studier där man injicerade embryonala stamceller från häst i möss. De nämner i sin diskussion att det är större risk för tumörformation när donatorn är av samma art som mottagaren. Åtta varmblod, utan tidigare skadehistorik, användes och man skapade tre olika vävnadsskador på frambenens ytliga böjsenor hos varje häst. Mesenkymala eller embryonala stamceller injicerades i den skadade vävnaden och hästarna sattes därefter på boxvila i 7 dagar. Sedan påbörjades ett rehabiliteringsprogram bestående av promenader från 5 min två gånger om dagen varpå det succesivt ökade till 30 minuter två gånger om dagen fram till vecka 8. Därefter fick hästarna börja vistas utomhus i en liten paddock. Undersökning av senan skedde med ultraljud vecka 4, 8 och 12. Hästarna avlivades antingen 10, 30, 60 eller 90 dagar efter behandlingen för utförligare undersökning. Resultatet visar att varken de mesenkymala eller de embryonala cellerna hade gett upphov till cellmedierat immunsvaret eller tumörbildning. De embryonala cellerna hade dock en högre överlevnad och befann sig på en konstant nivå under de 90 dagar som undersöktes, till skillnad från de mesenkymala som visade på lägre än 5 % överlevnad redan vid dag 10. De embryonala cellerna upptäcktes även finnas överallt i den skadade vävnaden, till skillnad från de mesenkymala som enbart uppmättes vid just det injicerade området (Guest et al, 2010).

## DISKUSSION

Stamcellsbehandlade senor har visat sig ha signifikant lägre strukturell styvhet än senskador enbart behandlade med saltlösning (Smith et al. 2013). Det tyder på att stamcellsbehandling kan ha en bättre läkningsprocess än traditionell behandling. Samtidigt visade Van Loon et al.s studie från 2014 att rent procentuellt skiljde sig resultatet mellan den stamcellsbehandlade gruppen och kontrollgruppen inte mycket. Kontrollgruppen i det här fallet bestod av tre hästar som fick traditionell behandling. Det är visserligen svårt att dra någon konkret slutsats då en större kontrollgrupp hade varit önskvärd för att utesluta slumpens inverkan. Dessutom bestod Van Loons försöksgrupp inte enbart av hästar med skador på ytliga böjsenan, utan även hästar med ligamentskador. Dock visade behandlingen ge bäst resultat på just ytliga böjseneskador. Det hade i framtida studier varit av intresse att undersöka dessa hästar efter en längre tid för att se om hållbarheten skiljer sig mellan stamcellsbehandlade och traditionellt behandlade senor och jämföra statistiken vid återfall.

I studie gjord av Smith et al. (2013) avlivades sex hästar ett halvår efter behandling med benmärgsstamceller och senornas strukturella styvhet analyserades. Dessa hästar var alla drabbade av allvarliga senskador, max två månader gamla. Enligt Taylor et al. (2010) bör stamcellstransplantation ske inom en månad från skadetillfället för att behandlingen ska vara så lyckad som möjligt. Ju längre tid från skadans uppkomst, desto mer ärrvävnad kan ha bildats. Dock visade resultatet i Smith et al.s studie att de stamcellsbehandlade senorna ändå hade en lägre strukturell styvhet. Då ingen längre uppföljning genomfördes är det svårt att fastställa hur hållbart resultatet var och om hästarna kunde komma tillbaka till full träning och presteras. Det hade varit intressant att även i Van Loon et al. (2010) studie få vetskap om hur lång tid efter själva skadans uppkomst som behandling påbörjades då det inte framgår. De hästar som visade gott resultat vid undersökning var igång i galopp redan sex veckor efter behandlingen, övriga som inte visade tillfredsställande resultat ytterligare behandling. Vid andra behandlingstillfället hade det gått ännu längre tid från skadans uppkomst och borde då

varit ännu svårare att behandla. Hur viktig transplantationstidpunkten är kan alltså utvärderas ytterligare.

Enligt Guest et al. (2010) är det vetenskapligt visat att implanterade celler har god överlevnadschans i hästens senvävnad. Embryonala stamceller har blivit associerade med tumörbildningar, dock är det ingen av de studier som den här litteraturstudien är baserad på som har uppmärksammat någon typ av biverkning. Vid Guest et als studie från 2010 visade resultatet att de embryonala cellerna hade betydligt bättre överlevnadsstatistik i den skadade vävnaden än de mesenkymala. De embryonala stamcellerna visade dessutom större spridning i den skadade vävnaden till skillnad från de mesenkymala stamcellerna som enbart befann sig vid det injicerade området. De embryonala stamcellerna bör därför påskynda och förbättra läkningsförmågan i den skadade senvävnaden ytterligare jämfört med mesenkymala. I framtida studier hade det varit önskvärt med längre uppföljning och att man utsatte hästarna för hårdare belastning för att kunna utvärdera hållbarheten av behandlingen. Kanske ger behandling med embryonala stamceller möjligheten för senskadade hästar att återvända till full träning snabbt utan att senvävnaden blir negativt påfrestad?

Att använda sig av embryonala stamceller väcker etiska frågor. De embryonala stamcellerna som används vid forskning tas från ett befruktat ägg fem till sju dagar efter befruktning. Är detta detsamma som att ta ett liv? Är det etiskt korrekt att använda sig av ett embryo, ett liv, för att rädda någon annans liv? Eller räknas ett befruktat ägg ännu inte som ett liv? Det kan vara intressant för framtida studier att utvärdera resultatet av användandet av embryonala stamceller efter en längre period för att se om återfallsstatistiken kan ha ett samband med överlevnadsstatistiken av stamcellerna i senvävnaden. Guest et als studie väcker även ytterligare etiska funderingar då försökshästarna fick experimentellt framkallade skador och därefter avlivades. Det må vara ett onödigt ont i forskningssammanhang att offra några få individer för att i det stora hela kunna rädda flera, men gör det att det är etiskt korrekt?

Det finns ett antal olika faktorer som kan påverka läkningstiden vid senskadador. Ett exempel kan vara individuella rehabiliteringsprogram men även hur pass allvarlig skadan är och när efter skadans uppkomst behandlingen påbörjades (Godwin et al. 2010). De studier som den här litteraturstudien är baserad på har använt sig av liknande rehabiliteringsprogram. Standarden är boxvila i en vecka, sedan skritt i ett antal veckor och sedan läggs travarbete till. Van Loon et al. (2014) och Guercio et al. (2010) hade båda liknande rehabiliteringsschema och deras hästar var tillbaka i full träning efter sex månader, till skillnad från Godwin et al. (2010) vars program var upplagt över 48 veckor. Godwin et al. (2010) använde sig av mesenkymala stamceller från benmärg och även Guercio et al. (2010) använde sig av mesenkymala stamceller, dock från fettvävnad. Guercio et als hästar var tillbaka i full träning redan efter 6 månader medan Godwin et als följde ett 48 veckor långt rehabiliteringsprogram. Sett till dessa två studier verkar de mesenkymala stamcellerna från fettvävnad ge en snabbare läkningsförmåga än mesenkymala stamceller från benmärg. Det intressanta är hur återfallsstatistiken ser ut och om de stamcellsbehandlade skadorna har regenererat vävnaden och på så vis gett en hållbarare sena. Vid uppföljning tre år senare var 72 % av Godwin et al s försökshästar i full träning utan att ha åtföljts av en ny skada på det behandlade benet. Godwin et al (2010) var den enda av dessa studier som gjorde en längre uppföljning av sitt resultat.

## **Slutsats**

Vid skador på ytliga böjsenan upplevs stamcellsbehandling enligt studier ge en god prognos och en förbättrad återfallsstatistik än traditionellt behandlade skador.

## REFERENSER

### Litteratur

Fortier, L.A. (2005) Stem cells: classifications, controversies, and clinical applications. *Vet. Surg.* 34, 415–423

Guercio, A., Di Marco, P., Casella, S., Rusotto, L., Puglisi, F., Majolino, C., Giudice, E., Di Bella, S., Purpari, G., Cannella, V. & Piccione, G. (2014). Mesenchymal stem cells derived from subcutaneous fat and platelet-rich plasma used in athletic horses with lameness of the superficial digital flexor tendon. *Journal of Equine Veterinary Science* xx, 2014, 1-8

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. *Equine Veterinary Journal*, 2010, Vol.42(7), pp.636-642

Richardson, L.E., Dudhia, J., Clegg, P.D. & Smith, R. 2007. Stem cells in veterinary medicine - attempts at regenerating equine tendon after injury. *Trends in Biotechnology* vol. 25, nr. 9, s. 409-416.

Smith, R. K. W., Werling, N.J., Dakin, S.G., Alam, R., Goodship, A.E. & Dudhia, J. (2013). Beneficial Effects of Autologous Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Naturally Occurring Tendinopathy. *Plos One*, 2013, Vol. 8(9)

Taylor, S.E., Smith, R.K.W. & Clegg, P.D. 2007. Mesenchymal stem cell therapy in equine musculoskeletal disease: scientific fact or clinical fiction? *Equine Veterinary Journal*, 2007, 39, s. 172-180.

Van Loon, Vic. J.F. et al. (2014) Clinical follow-up of horses treated with allogeneic equine mesenchymal stem cells derived from umbilical cord blood for different tendon and ligament disorders. *Veterinary Quarterly*, 2014, Vol.34(2), p.92-97.

### Internet

Den nationella forskningsportalen. (2009-06-29) Stamceller.  
<http://www.forskning.se/nyheterfakta/teman/stamceller/tiofragorochsvar/vadarstamceller.5.4a58c4bb12186995e9580002625.html> [2015-01-09]