



UNIVERSITÄT
LEIPZIG

Veterinärmedizinische Fakultät – Klinik für Pferde



SÄCHSISCHER
INKUBATOR FÜR
KLINISCHE TRANSLATION



GESELLSCHAFT FÜR PFERDEMEDIZIN

Charakterisierung equiner synovialer Makrophagen mittels Durchflusszytometrie

Helena Engelmann^{1,2}; Christiane Liliane Schnabel³; Karsten Winter⁴; Walter Brehm¹; Susanne Pauline Roth und Antonia Troillet^{1,2}

¹Universität Leipzig, Veterinärmedizinische Fakultät, Klinik für Pferde, Leipzig, Deutschland

²Universität Leipzig, Sächsischer Inkubator für klinische Translation, Leipzig, Deutschland

³Universität Leipzig, Veterinärmedizinische Fakultät, Institut für Immunologie, Leipzig, Deutschland

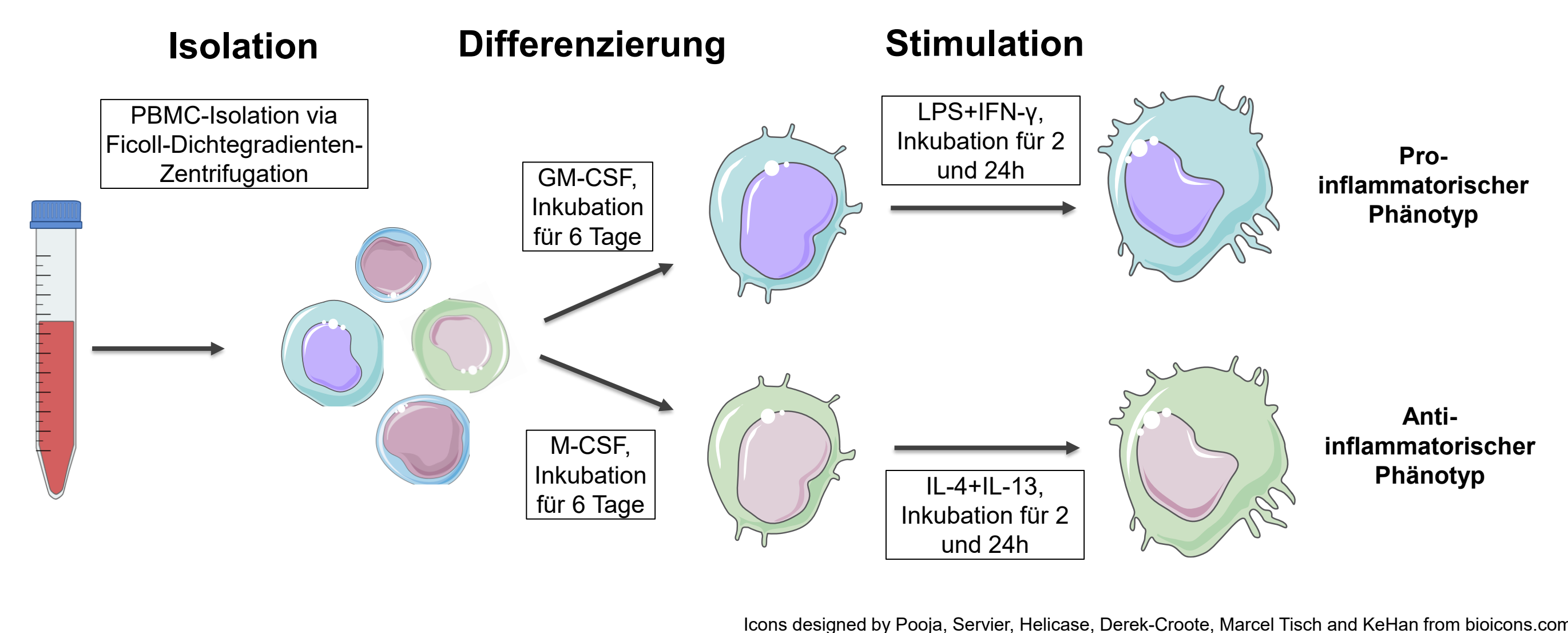
⁴Universität Leipzig, Medizinische Fakultät, Institut für Anatomie, Leipzig, Deutschland

HINTERGUND

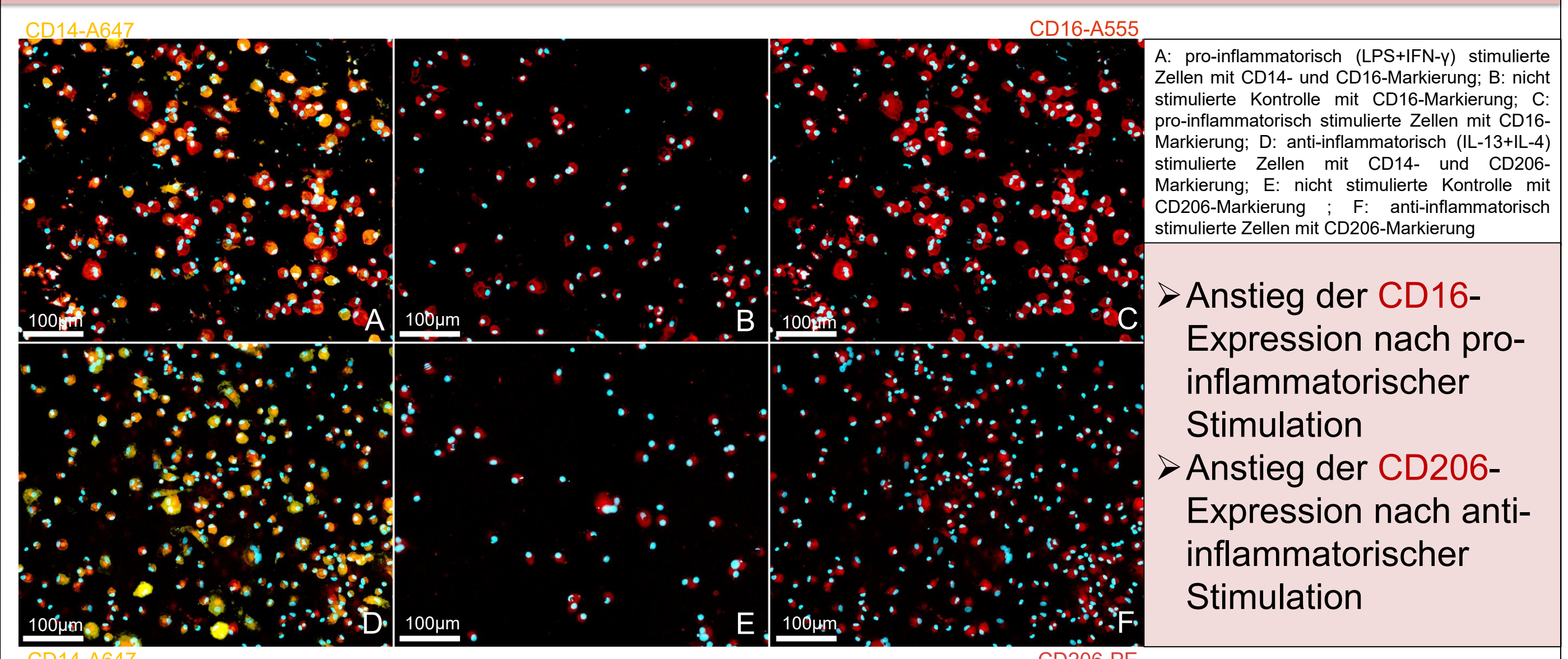
Die equine Osteoarthritis stellt eine der häufigsten Ursachen für Lahmheiten beim Pferd dar. Dennoch ist sie in ihrer Entwicklung und Pathogenese noch nicht vollumfänglich verstanden. Insbesondere Makrophagen könnten eine zentrale Rolle bei der Entstehung und Progression der equinen Osteoarthritis spielen (1-3). In der Literatur wird vorwiegend zwischen klassisch aktivierten pro-inflammatorischen Makrophagen (M1) und alternativ aktivierten anti-inflammatorischen Makrophagen (M2) unterschieden (4). Allerdings repräsentieren die beschriebenen Phänotypen vielmehr zwei Extreme eines Spektrums, weshalb davon ausgegangen werden muss, dass weitere intermediäre Subtypen dieser Zellen existieren. Jedoch konnten bisweilen keine spezifischen Marker für die entsprechenden Aktivitätszustände der Makrophagen des Pferdes definiert werden. Die Etablierung von Biomarkern zur phänotypischen Charakterisierung equiner synovialer Makrophagen sowie der Beschreibung verschiedener Subpopulationen sollen zum besseren Verständnis der Pathogenese der equinen Osteoarthritis und der Wirkungsmechanismen bestimmter Therapeutika auf die Makrophagen beitragen.

METHODIK UND ERGEBNISSE

1. Polarisation und Stimulation equiner Makrophagen aus peripheren mononukleären Blutzellen (PBMC)

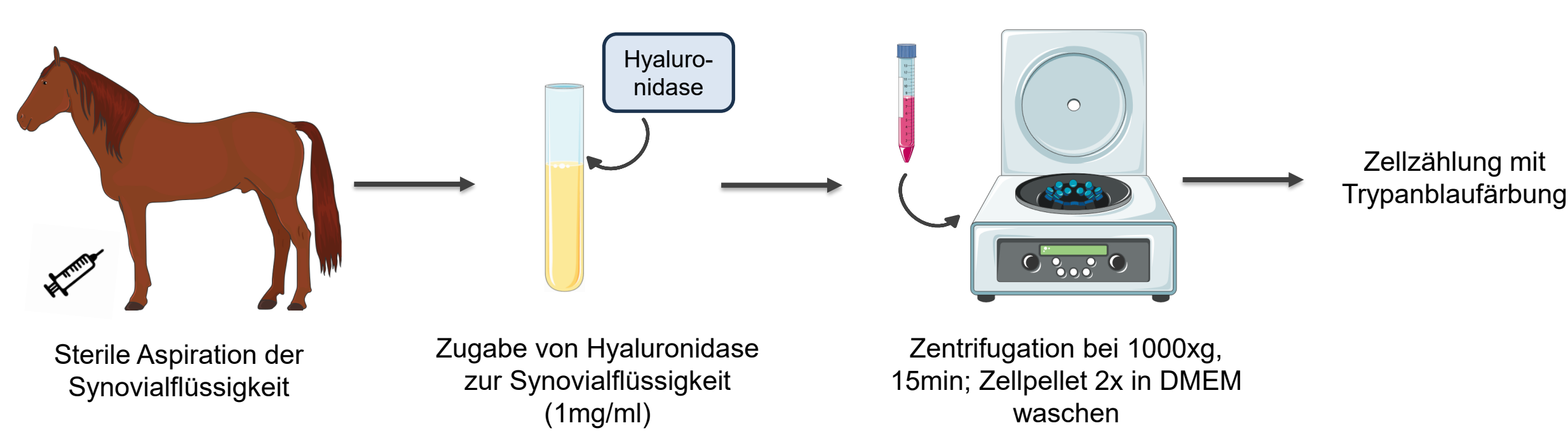


1. Pro- und anti-inflammatorische Stimulation equiner MoMPH (Monocyte-derived-macrophages)



2. Isolierung und Analyse der Markerexpression equiner synovialer Makrophagen

A: Probennahme und Aufbereitung equiner Synovialflüssigkeit



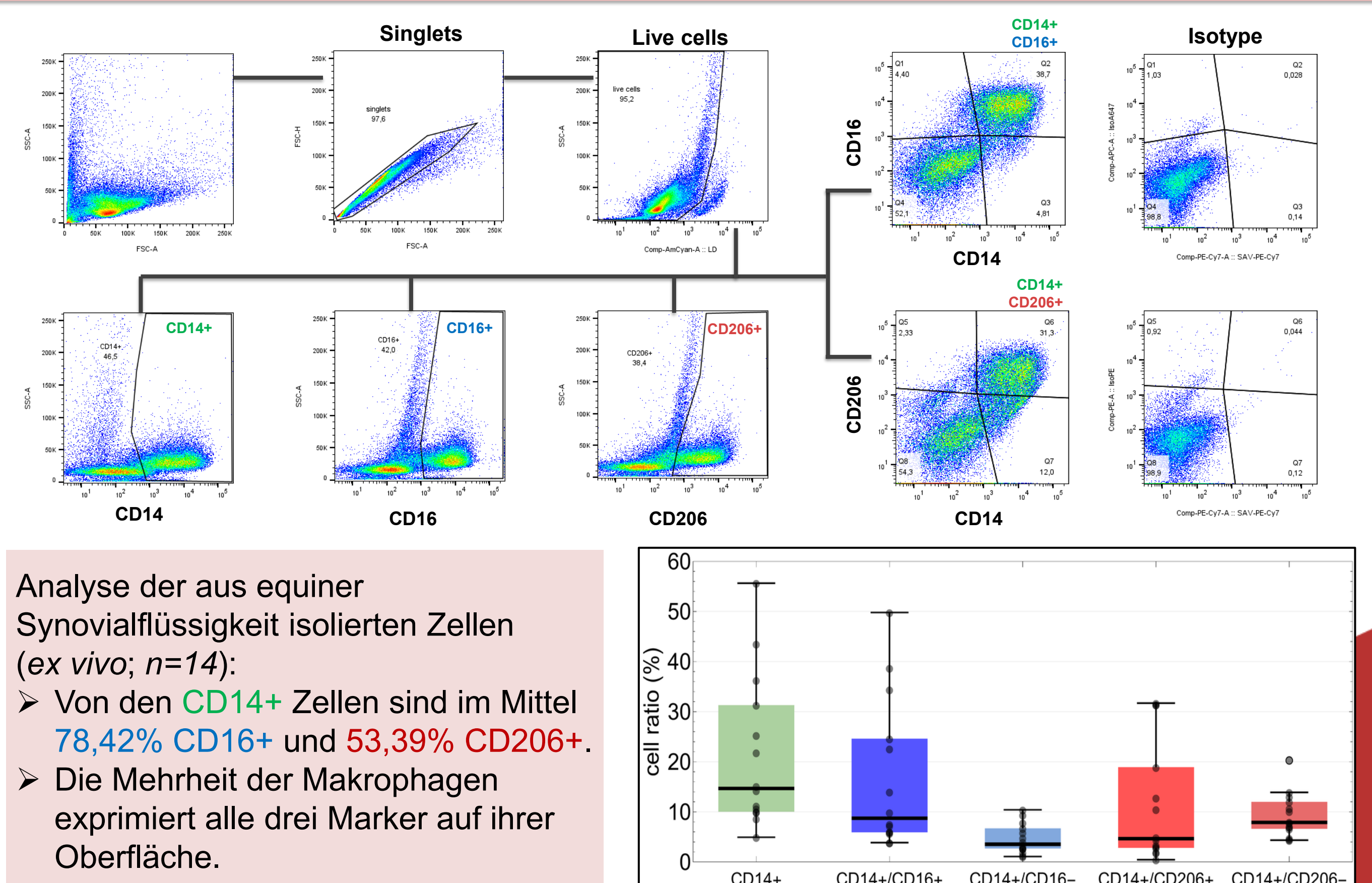
B: Antikörper-Markierung und Durchflusszytometrie



→ Ausblick: Stimulation equiner synovialer Makrophagen mit LPS und IFN-γ und Modulation durch Steroide (Dexamethason)

Icons designed by Pooja, Servier, Helicase, Derek-Croote, Marcel Tisch and KeHan from bioicons.com

2. Analyse der Expression von Oberflächenmarkern equiner synovialer Makrophagen (5)



Analyse der aus equiner Synovialflüssigkeit isolierten Zellen (ex vivo; n=14):
➢ Von den CD14⁺ Zellen sind im Mittel 78,42% CD16⁺ und 53,39% CD206⁺.
➢ Die Mehrheit der Makrophagen exprimiert alle drei Marker auf ihrer Oberfläche.

SCHLUSSFOLGERUNG

Es konnte erfolgreich eine Methode zur Isolierung von Zellen aus equiner Synovialflüssigkeit mittels Hyaluronidase, Zentrifugation und anschließender Zellaufreinigung in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) etabliert werden, mit welcher in Hinblick auf die nachfolgende durchflusszytometrische Analyse vielversprechende Ergebnisse erzielt werden konnten. Im weiteren Verlauf soll nun der Einfluss pro-inflammatorischer Zytokine sowie anti-inflammatorischer Faktoren (Dexamethason) auf die Markerexpression equiner synovialer Makrophagen genauer untersucht werden.

REFERENZEN

- Bondeson J et al. The role of synovial macrophages and macrophage-produced mediators in driving inflammatory and destructive responses in osteoarthritis. Arthritis Rheum 2010; 62(3):647–57.
- Manferdini C et al. From osteoarthritic synovium to synovial-derived cells characterization: synovial macrophages are key effector cells. Arthritis Res Ther 2016; 18:83.
- Menarim BC et al. Macrophage Activation in the Synovium of Healthy and Osteoarthritic Equine Joints. Front Vet Sci 2020; 7:568756
- Lawrence T et al. Transcriptional regulation of macrophage polarization: enabling diversity with identity. Nat Rev Immunol 2011; 11(11):750–61.
- Wagner B Monoclonal antibody development advances immunological research in horses. Vet Immunol Immunopathol 2024; 272:110771.

Kontakt

Helena Engelmann
Klinik für Pferde, Universität Leipzig
An den Tierkliniken 21a
04103 Leipzig
helena.engelmann@vetmed.uni-leipzig.de