

Einblick in die Methodenetablierung der Genexpressionsanalyse equiner synovialer Makrophagen als Zielzellpopulation equiner mesenchymaler Stromazellen (MSC)

^{1,2}Sonnenburg, L. E.; ^{1,2}Brehm, W.; ^{1,2}Troillet, A.; ^{1,2}Roth, S. P.

¹Klinik für Pferde, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig; ²Sächsischer Inkubator für Klinische Translation (SIKT), Universität Leipzig

Einleitung

Die intraartikuläre Applikation von equinen mesenchymalen Stromazellen (MSC) stellt eine vielversprechende Therapie zur Osteoarthritis beim Pferd dar (1). Der genaue Wirkmechanismus intraartikulär applizierter MSC ist jedoch nur unvollständig verstanden, u.a. geht man davon aus, dass immunmodulatorische MSC den Phänotyp synovialer Makrophagen in Richtung eines eher anti-inflammatorischen Phänotyps beeinflussen (2). Bisher fehlen eindeutige *in vitro* Beschreibungen zum spezifischen Einfluss von MSC auf synoviale Makrophagen beim Pferd. Darüber hinaus fehlen standardisierte Protokolle für die Genexpressionsanalyse equiner synovialer Gewebeproben.

Material und Methoden

Zur RNA-Gewinnung aus equinen Synovialisgewebe-Biopsaten wurde ein Protokoll entwickelt, das eine kombinierte enzymatische und mechanische Homogenisierung (mittels semi-automatischem Dissoziationsinstrument) mit einer Spin-Säulen-basierten Extraktionsmethode umfasst. Die isolierte RNA wurde anschließend mittels quantitativer Polymerase-Kettenreaktion (qPCR) analysiert, um stabile Referenz Gene zu etablieren.

Ergebnisse

Für die RNA-Extraktion aus Synovialisgewebe-Biopsaten erwies sich die Kombination aus mechanischer Homogenisierung mit RLT-Puffer, 2-Mercaptoethanol und dem gentleMACS™ Dissoziator sowie enzymatischer Homogenisierung mittels Proteinase K als besonders ertragreich, zeiteffizient sowie sauber. Eine Auswahl der mittels qPCR untersuchten Referenzgene (GAPDH, ACTB, YWHAZ, EEF1A1, β -2 Mircoglobulin) wird dargestellt.

Diskussion und Schlussfolgerung

Die Isolierung von mRNA aus Synovialisgewebe-Biopsaten mittels kombinierter mechanischer und enzymatischer Gewebekomogenisierung sowie die Nutzung der dargestellten Referenzgene stellen einen vielversprechenden Ansatz zur Etablierung der Genexpressionsanalyse von equinem Synovialisgewebe dar. Die Untersuchung MSC-vermittelter Effekte auf die Genexpression in equinem Synovialisgewebe kann zukünftig als Grundlage dienen, um mögliche Wirkmechanismen von MSC in Rahmen von Gelenkerkrankungen beim Pferd darzustellen.

Referenzen

1. Mayet A.; Zablotki Y. et. al. A. Systematic review and meta-analysis of positive long-term effects after intra-articular administration of orthobiologic therapeutics in horses with naturally occurring osteoarthritis. Front Vet Sci. 2023;10:1125695.
2. Pezzanite L. M.; Chow L. et al. Distinct differences in immunological properties of equine orthobiologics revealed by functional and transcriptomic analysis using an activated macrophage readout system. Front Vet Sci. 2023;10:1109473.

Kontaktadresse:

Lea Edith Sonnenburg, Sächsischer Inkubator für Klinische Translation (SIKT), Universität Leipzig, Philipp-Rosenthalstraße 55, 04103 Leipzig

lea_edith.sonnenburg@vetmed.uni-leipzig.de