

## Thema: **Entwicklung eines Verfahrens zur Generierung und Charakterisierung equiner Bronchialepithelzellen**

### Problem- und Zielstellung:

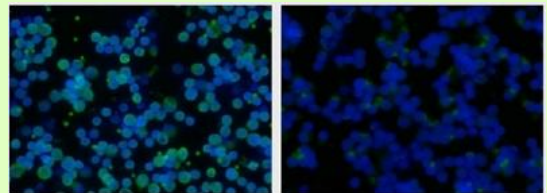
Es ist bekannt, dass die Atemwegsepithelzellen neben der physiologischen Bedeutung auch Entzündungsmediatoren freisetzen können und somit im Zusammenhang der Atemwegserkrankungen, wie bei der RAO (Recurrent Airway Obstruction) des Pferdes, eine Rolle spielen können. Dennoch wurde dies in isolierten primären Epithelzelllinien der equinen Atemwege bisher nicht untersucht, da es bisher keine Zellmodelle der Atemwege für das Pferd gibt. Ziel dieses Vorhabens war es daher, a) kultivierbare equine Bronchialepithelzellen (EBEC) und b) immortalisierte equine Bronchialepithelzellen zu etablieren. Da immortalisierte equine Bronchialepithelzellen als Zelllinie unter Kulturbedingungen lange haltbar sind, eignen sie sich zu Versuchszwecken über mehrere Passagen besser als die primären Bronchialepithel-Zellkulturen. Mit dieser Zelllinie sollten die mühsamen, kostspieligen und nicht-homogenen herkömmlichen Verfahren ersetzt werden. Von besonderer Bedeutung sind Zellkulturmodelle von Atemwegsepithelzellen für die Klärung der Pathomechanismen der equinen RAO und für die Entwicklung von faktorenspezifischen Medikamenten für Pferde sowie als Zellmodell zur Untersuchung des humanen Asthma bronchiale, da die RAO diesem sehr ähnelt.

### Beteiligte Einrichtungen:

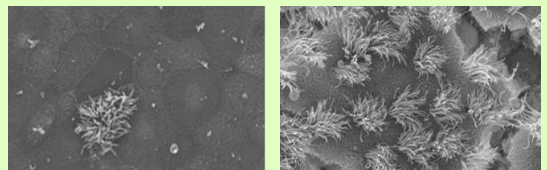
Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig  
CellTrend GmbH, Luckenwalde

### Ergebnisse

Anhand der erstmalig etablierten Methode konnte eine optimale Kulturbedingung zur Erhaltung primärer equiner Bronchialepithelzellen geschaffen werden. Somit können diese Zellen für In-vitro-Versuche zur Erforschung der Interaktion zwischen EBEC und den mesenchymalen Zellen (Fibroblasten) der Atemwege erfolgreich verwendet werden. Parallel dazu konnte das Verhalten der die EBEC-Kultur kontaminierenden Fibroblasten, die selbst als Zellmodell zur Erforschung der Pathogenese und der Airway-Remodelling bei RAO des Pferdes sowie der Wirkmechanismen der zur Behandlung der Erkrankung eingesetzten Pharmaka verwendet werden können, untersucht werden. Neben der erfolgreich charakterisierten primären Bronchialepithelzellen gesunder und RAO-erkrankter EBEC wurden die mit viralem Plasmid (SV40-T-large-Antigen) sowie mit chemischer Substanz Y-27632 (Rock Inhibitor) immortalisierten Zelllinien der Bronchialepithelzellen generiert. Diese Zellen besitzen eine gute Proliferations- und Differenzierungsrate sowie epitheliale Eigenschaften und können für weitere Fragestellungen im Zusammenhang mit der Atemwegserkrankung und Therapieoptimierung bei Asthma oder RAO eingesetzt werden. Hinsichtlich der Stabilität und Vitalität der EBEC eignet sich die Kryokonservierung als optimale Methode für die Aufbewahrung der Zellen, ohne dass die phänotypische Eigenschaften der Epithelzellen verloren gehen.



Immunzytochemische Färbung frisch isolierter EBEC



Differenzierung zu Zilienzellen unter LLI- und ALI-Bedingung



H/E-Färbung (P0-Zellen), mehrreihiges Epithel

### Ausblick:

Neben der Verwendung der Atemwegsepithelzellen bei der Untersuchung physiologischer Funktionen und pathologischer Veränderungen sind die Zellen für die Arzneimittelentwicklung und -screening in präklinischen Studien alternativ zu Tierversuchen von unschätzbare Bedeutung und somit wichtige Tools für pharmazeutische Unternehmen. Es ist damit zu rechnen, dass aufgrund von Publikationen in Fachzeitschriften die Forschungsergebnisse auf großes Interesse stoßen werden. Dementsprechend werden ausreichend primäre und immortalisierte Zellen bei der Fa. CellTrend kryokonserviert aufbewahrt und die Technik zum Verfahren bei diesem Unternehmen hinterlegt.