

5. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Veränderungen im lymphatischen Gewebes des Dünndarms von Rindern mit experimentell induzierter Mucosal Disease zu charakterisieren und histometrisch zu objektivieren. Zu diesem Zweck wurden IgM+, IgA+ und IgG1+ B-Lymphozyten, Plasmazellen sowie BoCD4+ und BoCD8+ Lymphozyten, $\tau\delta$ T-Zellen und Makrophagen des GALT immunhistochemisch dargestellt. Die Veränderungen bezüglich der Anzahl und Verteilung der Lymphozyten und Plasmazellen wurden quantitativ, die der Makrophagen semiquantitativ erfaßt. Zusätzlich wurde das Virusantigen des zytopathogenen BVDV-Stammes, mit dem Mucosal Disease ausgelöst wurde, immunhistochemisch dargestellt.

Die Peyerschen Platten des Jejunums, die Peyersche Platte des Ileums, sowie die Lamina propria und das Epithel von insgesamt 13 Rindern wurden ausgewertet. Bei 7 dieser Tiere war Mucosal Disease experimentell induziert worden. 6 klinisch gesunde Rinder mit persistierender BVDV-Infektion aus dem gleichen Bestand bildeten die Vergleichsgruppe. Die Zählung der Lymphozytensubpopulationen wurde mit einem halbautomatischen Bildanalysesystem durchgeführt.

Die Anzahl und Verteilung der Leukozytensubpopulationen im lymphatischen Gewebe der persistierend virämischen Tiere entsprach den in der Literatur beschriebenen Verhältnissen bei nichtinfizierten Rindern.

Im Gegensatz dazu war das Darmschleimhautimmunsystem im Dünndarm der Rinder mit Mucosal Disease in allen Bereichen verändert:

In den Peyerschen Platten des Jejunums und des Ileums kam es zu einem fast vollständigen Verlust der "domes" und des follikelassozierten Epithels. Die Follikelareale waren signifikant kleiner, und die Zahl der IgM+ und IgA+ B-Lymphozyten in den Follikeln war signifikant erniedrigt im Vergleich zu den persistierend virämischen Rindern. In den veränderten Follikeln wurde in vielen Zellen mit dendritischer Morphologie BVD-Virusantigen des inokulierten zp Biotyps markiert. Es wurden dort mehr BoCD4+ und BoCD8+ T-Lymphozyten pro Flächeneinheit gezählt als in den Follikeln der persistierend virämischen Rinder. Die Anzahl dieser T-Lymphozyten bezogen auf die Gesamtfläche der Follikel war jedoch unverändert.

In der Lamina propria des Dünndarms war die Anzahl der IgA+ und IgM+ Plasmazellen signifikant verringert, während die Verringerung der IgG1+ Plasmazellen nicht statistisch gesichert werden konnte. In den Krypten der Rinder mit Mucosal Disease war nur noch in einigen Bereichen IgA und IgM nachzuweisen. Dies weist auf eine verminderte Immunglobulinsekretion hin. Ein Vergleich von Konsekutivschnitten, in denen IgA, IgM und der zp BVDV-Stamm dargestellt war zeigte, daß sich speziell in virusantigenhaltigen Kryptepithelien kein IgA oder IgM nachweisen ließ.

Die Zahl der intraepithelialen BoCD8+ und $\tau\delta$ T-Zellen im Zottenepithel war gegenüber den persistierend virämischen Tieren signifikant reduziert.

Die Ergebnisse verdeutlichen die Zerstörung der gastrointestinalen Barriere durch die hochgradigen Veränderungen des Darmschleimhautimmunsystems. So könnte die Anheftung und das Eindringen verschiedenster pathogener Keime durch die verringerte Immunglobulinsekretion erleichtert werden.

Die geringe Zahl von intraepithelialen BoCD8+ Zellen und $\tau\delta$ T-Zellen und eine Verminderung von intrazellulärem Immunglobulin in den Kryptepithelien begünstigt möglicherweise die Ausbreitung des BVD-Virus im Epithel. Der Verlust der "domes" und des follikelassozierten Epithels verhindert wahrscheinlich die gezielte Aufnahme von Antigen über M-Zellen und damit die Auslösung einer spezifischen Immunantwort.

Die genannten Veränderungen stellen die Schädigung des Darmschleimhautimmunsystems im fortgeschrittenen Krankheitsstadium der Mucosal Disease dar. Weitere Untersuchungen in frühen Stadien der Mucosal Disease sind notwendig, um die zeitliche Abfolge der Veränderungen und damit ihre Entstehung zu klären.

Die vorliegenden Ergebnisse unterscheiden sich in wesentlichen Befunden von enteropathogenen viralen oder bakteriellen Infektionen des Rindes. Sie unterscheiden sich auch wesentlich von B- oder T-zellvermittelten Autoimmunerkrankungen sowie von den Veränderungen des Darmschleimhautimmunsystems bei den chronischen Darmentzündungen Morbus Crohn und Kolitis ulzerosa des Menschen oder der Gluten-sensitiven Zöliakie.

Übereinstimmungen zeigten sich bei der mit der BVD/MD eng verwandten Europäischen Schweinepest, ebenso wurde von teilweise vergleichbaren Veränderungen bei der HIV-Infektion des Menschen berichtet.

Küsters, Christoph:

Histometrical investigations of lymphocyte subsets in the gut associated lymphoid tissue of small intestine from cattle with experimentally induced mucosal disease and from healthy but persistently viremic cattle

7. Summary

The objective of this investigation was to characterize the alterations of lymphoid tissues in the small intestine of cattle with experimental mucosal disease. For the histometrical evaluation of lymphocyte subsets. IgM+, IgA+, IgG1+ B-lymphocytes and plasma cells as well as BoCD4+, BoCD8+ and $\tau\delta$ TCR+ T-lymphocytes and macrophages of the gut associated lymphoid tissue (GALT) were visualized by immunohistochemical methods. Changes in number and distribution of lymphocytes and plasma cells were enumerated with a semiautomatic image analysis system. Macrophages were semiquantitatively recorded. In addition, the distribution of antigen of cp BVDV strain Indiana which had been used to induce mucosal disease was demonstrated by immunohistochemistry.

Peyer's patches in jejunum and ileum, small intestinal lamina propria and intraepithelial lymphocytes were examined in thirteen cattle. In seven of these animals mucosal disease had been induced. The remaining six were clinically healthy but persistently viremic cattle. Five were from the same herd as the calves with MD and one was from another herd; they were used as controls.

Number and distribution of lymphocyte subpopulations in the GALT of clinically healthy persistently viremic cattle were in accordance with data reported in non-infected cattle.

In contrast, alterations of all compartments of the GALT in small intestine were found in cattle with mucosal disease: In the jejunal and ileal Peyer's patches, there was an almost complete loss of domes and follicle-associated epithelium (FAE). The lymphoid follicles were significantly smaller and the number of IgM+ and IgA+ B-lymphocytes within lymphoid follicles was significantly diminished. Within lymphoid follicles, numerous cells with dendritic morphology stained for cp BVD viral antigen. Numbers of BoCD4+ and BoCD8+ cells in lymphoid follicles were increased in counts per area, but there was no change when these counts were estimated at total area of the follicles.

In the lamina propria the number of IgA+, IgM+ plasma cells was significantly and the number of IgG1+ plasma cells was not significantly reduced. Only in some crypt epithelia of the cattle with mucosal disease, IgA and IgM could be demonstrated, indicating a decreased secretion of immunoglobulins (Ig). When consecutive sections stained for IgA or IgM and for cp

BVD viral antigen were compared, it became obvious that especially crypt epithelia which contained viral antigen did not stain for IgA or IgM. In the villous epithelium the number of BoCD8⁺ and $\tau\delta$ TCR⁺ T-lymphocytes was significantly reduced.

These results illustrate the destruction of the gastrointestinal barrier by the severe alterations of the mucosal immune system. The reduced secretion of Ig may facilitate the adhesion and intrusion of pathogens.

It can be hypothesized that the reduced amount of intraepithelial Ig and the reduced number of intraepithelial BoCD8⁺ and $\tau\delta$ TCR⁺ lymphocytes promotes the spreading of BVDV within the epithelium. The loss of domes and FAE inhibits most likely uptake of antigen through M cells and thereby the induction of a specific immune response.

The described changes represent alterations of the GALT in cattle with advanced symptoms of mucosal disease. Further investigations of cattle in the early phase of mucosal disease are necessary to clarify the sequence of changes.

The results of these investigations are different from changes in the GALT, caused by viral and bacterial enteropathogens like rotaviruses and Escherichia coli. They also differ from B-cell-mediated or T-cell-mediated autoimmune diseases and from alterations caused by chronic inflammatory bowel diseases or celiac sprue in man. The alterations of GALT in mucosal disease resemble with changes caused by hog cholera virus which is closely related to BVD virus and there are some similarities with changes in the HIV infection.