

5 Zusammenfassung

Die Infektion des Menschen mit HIV und die Erkrankung an AIDS ist längst zu einer weltweit ernstzunehmenden Bedrohung aller Bevölkerungsschichten geworden. An die Erforschung der Pathogenese und die Entwicklung von Behandlungs- und Impfstrategien werden sehr hohe Anforderungen gestellt, und es sind die Hoffnungen Millionen infizierter bzw. erkrankter Menschen damit verbunden. Bei der Suche nach geeigneten Modellen erwies sich die SIV-Infektion von Rhesusaffen auf Grund immunbiologischer sowie klinischer Parallelen als exzellentes Tiermodell für die Erforschung von HIV und AIDS.

Der Gastrointestinaltrakt stellt eines der Hauptzielorgane der HIV/SIV-Infektion dar. Dennoch sind deren Auswirkungen auf das intestinale Schleimhautimmunsystem (GALT) nur unzureichend geklärt. Um einen Beitrag zur Frage nach der immunpathologischen Bedeutung des Rektums als Infektionsroute und Erregerreservoir bei SIV-infizierten Rhesusaffen zu leisten, wurde aufbauend auf einer Charakterisierung der Normalstruktur des rektalen GALT-Systems bei Rhesusaffen ein SIV-Infektionsversuch durchgeführt.

In einem ersten Abschnitt erfolgten licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Morphologie des rektalen GALT-Systems bei Rhesusaffen. Lymphatische Einrichtungen waren in sehr großer Zahl vorhanden und stellten sich als Propriaknötchen, Submukosafollikel und lymphoglanduläre Komplexe dar. Die Dome-Regionen zeigten sich als flache Erhebungen, trichterförmige Invaginationen sowie vereinzelt Vorwölbungen in das Darmlumen in sehr unterschiedlicher Ausprägung. Das Follikel-assoziierte Epithel enthielt neben den dominierenden Becherzellen, enteroabsorptive Zellen und M-Zellen, deren ultrastrukturellen Besonderheiten in einer unregelmäßigen Mikrovillstruktur, einem gehäuftem Vorkommen von Vakuolen sowie dem Einschluß intraepithelialer Lymphozyten lagen.

Im folgenden Abschnitt dieser Arbeit wurde eine endoskopische Methode zur Entnahme von Schleimhautbiopsien und Untersuchungsmaterialien aus dem oberen und unteren Gastrointestinaltrakt von Rhesusaffen etabliert. Die angewandten endoskopischen Untersuchungsverfahren erwiesen sich als eine praktikable, gut verträgliche, wenig invasive Technik zur intravitalen Probengewinnung im Infektionsverlauf. Das gewonnene Probenmaterial ermöglichte eine gute Aussagefähigkeit über den pathomorphologischen Status der Darmschleimhaut.

Abschließend wurden an den endoskopisch entnommenen rektalen Schleimhautbiopsien in immunhistochemischen Untersuchungen das Verteilungsmuster viralen Antigens, die Lokalisation SIV-infizierter Zellen im Gewebeverbund sowie die Verhältnisse verschiedener, mononukleärer Zellpopulationen bestimmt. SIV-Antigen konnte ab der ersten Woche p. i. vorwiegend in Lymphozyten, Makrophagen und dendritischen Retikulumzellen der Lamina propria und Lymphfollikeln nachgewiesen werden. In der semiquantitativen Auswertung deutete sich bei einigen Tieren ab der zweiten Woche p. i. eine Abnahme in der T-Zell-Fraktion an.

Weiterhin wurden im Rahmen der licht- und elektronenmikroskopischen Auswertung des Untersuchungsmaterials eine Reihe primärer und sekundärer Alterationen festgestellt. Primär SIV-induzierte Schleimhautveränderungen sind in der Definition „SIV-Enteropathie“ zusammengefaßt und zeigten sich im Infektionsverlauf mit zunehmenden Epithelzellschädigungen - von Einzelzellnekrosen bis hin zu großflächigen Ablösungen mit Ödemen und Hyperämien - Infiltration von Entzündungszellen, Kryptabszeßen sowie Follikeldepletion. Sekundäre opportunistische Infektionen stellten einen sehr häufigen Befund dar. Es konnten mit abnehmender Häufigkeit Balantidien, Flagellaten, Bakterien, Kryptosporidien und Helminthen nachgewiesen werden.

Die vorliegenden Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung der SIV-Infektion von Rhesusaffen als exzellentes Tiermodell in der AIDS-Forschung. Die gastrointestinale Endoskopie ermöglicht am Rektum den Zugang zu lokalen, lymphatischen Gewebestrukturen im Rahmen von Verlaufsstudien einer experimentellen SIV-Infektion. Zukünftig soll in laufenden Pathogenesestudien und Vakzinierungsversuchen anderer Arbeitsgruppen die Erregereliminierung am GALT-System untersucht werden, um den Erfolg prophylaktischer Maßnahmen auch an einem organbezogenen lymphatischen Gewebe zu evaluieren.

6 Summary**Kathrin Herrmann :****Morphological investigation of the rectal mucosal immune system (GALT) and detection of retroviral antigen in rectal biopsies of SIV-infected rhesus macaques**

The human immunodeficiency virus (HIV) infection and the subsequent occurrence of the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) has long become a serious threat to the general population. Taking into account the millions of HIV-infected people and those already suffering from AIDS great emphasis is laid on pathogenetic studies and the development of drugs and vaccines. Searching for a highly suitable animal model the simian immunodeficiency virus (SIV) infection of rhesus macaques proved to be an excellent model for studies on HIV and AIDS, because of many immunobiological and clinical similarities.

The gastrointestinal tract is one of the main target organs of the HIV/SIV-infection. Nevertheless, their effects on the gut-associated lymphoid tissue (GALT) have not been sufficiently explained yet. The aim of this study is to demonstrate the immunopathological importance of the rectum as route of infection and place of virus replication in SIV infected rhesus macaques. For this purpose the normal structure of the rectal GALT was first studied and an SIV-infection experiment with rhesus macaques was initiated.

At the beginning both light and electron microscopic methods were applied for the histological and ultrastructural characterization of the rectal GALT in rhesus macaques. Lymphatic tissue could be found in the shape of propria nodules, submucosa follicles and lymphoglandular complexes. Different types of Dome-regions such as flat protrusions, conical invaginations and polymorph projections were exposed to the intestinal surface. The follicle-associated epithelium consists of predominating goblet cells, enteroabsorptive cells and M cells. The ultrastructural characteristics of these M cells are irregular microvilli, numerous apical vesicles and close contact to intraepithelial cells.

In the following part of this study an endoscopical method was established to take mucosal biopsies and other samples from the upper and lower gastrointestinal tract in rhesus macaques. The endoscopical techniques used proved to be practicable, easily tolerated and minimal invasive in order to get intravital specimens in the course of infection. The material achieved gave good information on the pathomorphological status of the gastrointestinal mucosa.

Follow-up immunohistochemical investigations based on rectal biopsies have been carried out in order to determine the distribution pattern of viral antigen, the localization of SIV-infected cells in the tissue and the amount of different, mononuclear cell populations. SIV-antigen could be found mostly in lymphocytes, macrophages and dendritic cells of the Lamina propria and lymph follicles starting in the first week post infectionem. In the semiquantitative evaluation a decrease in the T-cell population became apparent.

Evaluating the light and electron microscopic findings of the rectal biopsies a spectrum of primary and secondary intestinal alterations was detected. Primary SIV-induced alterations were defined as „SIV enteropathy“ and were considered as increasing damages of epithelial cells reaching from necrosis of singular cells to large detachments with edemas and hyperemias, infiltration of inflammatory cells, crypt-abscesses and depletion of the follicles. Secondary opportunistic infections were the most common findings in the rectum of SIV-infected rhesus macaques. The frequency of appearance of the detected opportunistic agents ranged from very frequent (*Balantidium coli*), to less frequent (Flagellates, Bacterials, *Cryptosporidium*) and seldom (Helminths).

The results of this study underline the importance of a SIV-infection of rhesus macaques as an excellent animal model in AIDS research. By means of a gastrointestinal endoscopy local lymphatic tissue of the rectum can be examined in the course of SIV-infection. In the future, current pathogenetic studies on HIV/SIV and the attempts to find vaccines will aim at the elimination of the virus in the GALT in order to evaluate whether preventive measures also have an effect on organ-related lymphatic tissue.