

## 5. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden *in vitro*- und *ex vivo*- Untersuchungen zu viralen Infektionen des Trachealepithels des Pferdes und der dadurch ausgelösten Zytokinexpression durchgeführt. Hauptuntersuchungsgegenstand war eine im Institut für Veterinär-Pathologie etablierte Zellkultur aus equinem Trachealepithel (ET Zellen).

Die ET Zellen wurden mit den equinen Herpesviren vom Typ 1, 2 und 4 (EHV-1, -2, -4), den equinen Rhinitisviren Perv und 350/72 (equines Rhinitis A Virus: ERAV) und P 1436/73 (equines Rhinitis B Virus: ERBV) sowie mit dem Vesikulären Stomatitisvirus (VSV) und dem Erreger der equinen Arteriitis (EAV) infiziert. Nach Erstinfektion wurden die Zellen zweimal passagiert und es wurden Wachstumskurven für diese Viren erstellt. Außer EHV-4 führten alle verwendeten Viren zu einer produktiven Infektion der ET Zellen. Für ERAV und ERBV ist damit bewiesen, auch die unteren Luftwege des Pferdes zu infizieren und pathogene Mechanismen auslösen zu können. Weiterhin ist die Vermutung über die Bedeutung von EHV-2 für respiratorische Erkrankungen des Pferdes untermauert worden. Interessanterweise kam es für EHV-4, den typischen Erreger der Rhinopneumonitis beim Pferd, nicht zu einer produktiven Infektion der ET Zellen. Möglicherweise handelt es sich um eine restringiert-persistente Infektion, dies muß in weiteren Untersuchungen erforscht werden.

Anschließend wurde die Zytokinexpression durch die ET Zellen vor und nach Infektion mit EHV-1, -2, -4 sowie beiden Stämmen der ERAV bestimmt. Dazu wurde nach RNA Isolierung und darauffolgender Umschreibung in cDNA die erhaltene cDNA mit Hilfe zytokinspezifischer Primer vervielfältigt (RT-PCR). Es wurden die Primer für equines Interleukin (IL) -1 $\alpha$ , -1 $\beta$ , -2, -4, -5, -6, -8, -10, -11, -13, Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), Interferon  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) und Granulozyten-Makrophagen-Kolonienstimulierender Faktor (GM-CSF) verwendet. Für die ET Zellen wurde eine Zytokinexpression für IL-1 $\alpha$ , -1 $\beta$ , -6, -8, -10 und -11 nachgewiesen. Alle Zytokine wurden schon vor Infektion exprimiert. Nach viraler Infektion konnten Änderungen der Zytokinexpression beobachtet werden. Als ein wichtiges Ergebnis stellte sich heraus, daß beide ERAV deutlich die Zytokinexpression für IL-11 erhöhten. Bei der angewandten RT-PCR handelt es sich um einen qualitativen Nachweis, in weiteren Untersuchungen sollten zur besseren Auswertung auch quantitative Methoden zum Einsatz kommen.

Um Aussagen über das Zytokinspektrum in den unteren Atemwegen der Pferde zu erhalten, wurden weiterhin von 15 Schlachtpferden Zellproben durch Abschaben der Trachea und ihrer Bifurkation mit dem Skalpell gewonnen. Dafür wurden Tracheen von Lungen ohne

makroskopisch sichtbare pathologische Veränderungen ausgewählt. Es konnte mRNA für IL-8 (100% der Pferde), IL-2 (67%), IL-1 $\beta$ , -6, -10 (60%), IFN $\gamma$  (53%), IL-1 $\alpha$  (20%) sowie für IL-11, TNF $\alpha$  und GM-CSF (13%) nachgewiesen werden. mRNA für IL-4, -5 und -13, welche kennzeichnend für Th2-Lymphozyten sind, konnte bei keinem der Pferde festgestellt werden. Das Vorkommen von IL-2 und IFN $\gamma$  bei einem Großteil der Pferde sowie das Fehlen von IL-4, -5 und -13 zeigen, daß bei Pferden ohne morphologische Veränderungen im Epithel der unteren Atemwege eine Th1-Immunität vorzuherrschen scheint.

Die Zellen von vier Pferden wurden nach der Gewinnung sofort mit EHV-1, -2 und -4 sowie mit den equinen Rhinitisviren infiziert. Hier zeigte sich interessanterweise, daß schon die Kultivierung der Zellen allein zu Änderungen in der Zytokinexpression führte. Aussagen über Änderungen der Zytokinexpression nach Infektion konnten ohne Quantifizierung nicht getroffen werden.

Mit dieser Arbeit wurde gezeigt, daß dem equinen Trachealepithel aus immunologischer Sicht große Bedeutung für die Pathogenese respiratorischer Erkrankungen zugeschrieben werden kann und es Gegenstand weiterer Forschungsarbeiten werden sollte.