

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---------------------------------------------------|-----------|
| Inhaltsverzeichnis | I |
| 1 Einleitung..... | 1 |
| 2 Literaturübersicht | 2 |
| 2.1 Das equine Sarkoid | 2 |
| 2.1.1 Makroskopisches Erscheinungsbild | 2 |
| 2.1.2 Histopathologie..... | 3 |
| 2.2 Ätiologie..... | 5 |
| 2.2.1 Physikalische Noxen | 5 |
| 2.2.2 Genetische Faktoren..... | 5 |
| 2.2.3 Virusinfektionen | 5 |
| 2.3 Papillomviren | 7 |
| 2.3.1 Das bovine Papillomvirus Typ 1 | 9 |
| 2.4 Pathogenese des equinen Sarkoids | 11 |
| 2.5 Therapie des equinen Sarkoids..... | 13 |
| 2.5.1 Chirurgische Therapiemethoden | 13 |
| 2.5.2 Immunmodulation..... | 14 |
| 2.5.3 Strahlentherapie | 16 |
| 2.5.4 Chemotherapie | 16 |
| 2.5.5 Hyperthermiebehandlung..... | 18 |
| 2.5.6 Homöopathie..... | 18 |
| 2.5.7 Phytotherapie | 18 |
| 3 Material und Methoden..... | 21 |
| 3.1 Material | 21 |
| 3.1.1 Untersuchungsmaterial..... | 21 |
| 3.1.2 Seren und Antiseren..... | 21 |
| 3.1.3 Zelllinien..... | 22 |
| 3.1.4 Bakterienstamm | 22 |
| 3.1.5 Enzyme | 22 |
| 3.1.6 Chemikalien, Arzneimittel und Kits | 23 |
| 3.1.7 Geräte | 24 |

| | | |
|------------|------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.1.8 | Verbrauchsmaterial | 24 |
| 3.1.9 | Versuchstiere | 25 |
| 3.1.10 | Stammlösungen und Puffer | 25 |
| 3.1.10.1 | Histologie | 25 |
| 3.1.10.2 | Zellkultur | 28 |
| 3.1.10.3 | PCR | 29 |
| 3.1.10.4 | Sequenzierung | 30 |
| 3.1.10.5 | Southern Blot | 30 |
| 3.1.10.6 | Western Blot | 31 |
| 3.2 | Methoden | 32 |
| 3.2.1 | Histopathologische Untersuchung | 32 |
| 3.2.1.1 | Anfertigung von Paraffinschnitten | 32 |
| 3.2.1.2 | Hämalaun-Eosin-Färbung | 33 |
| 3.2.2 | Immunhistologische und immunzytologische Untersuchungen | 33 |
| 3.2.3 | In-situ-Hybridisierung (ISH) | 35 |
| 3.2.4 | Untersuchungen an primären Zelllinien | 37 |
| 3.2.4.1 | Anlegen primärer Zelllinien | 37 |
| 3.2.4.2 | Kultivierung von Zellen | 37 |
| 3.2.4.3 | Kryokonservierung von Zellen | 38 |
| 3.2.4.4 | Karyogramm zur Bestimmung des Chromosomensatzes | 38 |
| 3.2.4.5 | Giemsa-Färbung | 39 |
| 3.2.4.6 | Auswertung der Metaphasechromosomen | 39 |
| 3.2.5 | Molekularbiologische Techniken | 39 |
| 3.2.5.1 | Vorbereitung des Untersuchungsmaterials für PCR und RT-PCR | 39 |
| 3.2.5.2 | Oligonukleotide (Primer) für die PCR | 40 |
| 3.2.5.3 | DNA-Amplifikation | 41 |
| 3.2.5.4 | RT-PCR | 43 |
| 3.2.5.5 | DNA-Sequenzierung | 43 |
| 3.2.5.6 | Southern Blot | 45 |
| 3.2.5.7 | Western Blot | 48 |
| 3.2.6 | Bestimmung der mitochondrialen Dehydrogenaseaktivität | 50 |
| 3.2.7 | CFSE-Proliferationsassay | 51 |
| 3.2.8 | Hamstermodell | 52 |
| 4 | Ergebnisse | 54 |
| 4.1 | Histopathologische Klassifikation der equinen Sarkoide | 54 |
| 4.2 | Immunhistologische Charakterisierung der equinen Sarkoide | 54 |

| | | |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.3 | Nachweis von BPV in equinen Sarkoiden..... | 55 |
| 4.3.1 | PCR..... | 55 |
| 4.3.2 | Sequenzierung..... | 55 |
| 4.3.3 | In-situ-Hybridisierung (ISH)..... | 56 |
| 4.3.4 | Immunhistologie | 56 |
| 4.4 | Zellproliferation und Zellzyklussteuerung in equinen Sarkoiden..... | 58 |
| 4.5 | Etablierung von primären Zelllinien | 61 |
| 4.5.1 | Nachweis von BPV in primären Zelllinien | 62 |
| 4.5.2 | Zytogenetische Charakterisierung primärer Zelllinien..... | 64 |
| 4.5.3 | Immunzytologische Charakterisierung primärer Zelllinien | 67 |
| 4.5.4 | Bestimmung der mitochondrialen Dehydrogenaseaktivität | 68 |
| 4.5.4.1 | Aktiver Immunmodulator (AIM) 1..... | 68 |
| 4.5.4.2 | Aktiver Immunmodulator (AIM) 2..... | 70 |
| 4.5.4.3 | Aktiver Immunmodulator (AIM) 3..... | 71 |
| 4.5.4.4 | Aktiver Immunmodulator (AIM) 4..... | 73 |
| 4.5.4.5 | Aktiver Immunmodulator (AIM) 5..... | 74 |
| 4.5.4.6 | Cis-4-Hydroxy-L-Prolin (CHP)..... | 75 |
| 4.5.4.7 | Immodin | 77 |
| 4.5.4.8 | Foscarnet-Natrium..... | 78 |
| 4.5.4.9 | Sanguinarin..... | 80 |
| 4.5.5 | CFSE-Proliferationsassay | 81 |
| 4.5.5.1 | Aktiver Immunmodulator (AIM) 2..... | 81 |
| 4.5.5.2 | Aktiver Immunmodulator (AIM) 3..... | 81 |
| 4.5.5.3 | Aktiver Immunmodulator (AIM) 5..... | 81 |
| 4.5.5.4 | Aktiver Immunmodulator (AIM) Kombination 3 + 5 | 81 |
| 4.5.5.5 | Cis-4-Hydroxy-L-Prolin (CHP)..... | 81 |
| 4.5.5.6 | Immodin | 81 |
| 4.6 | Hamstermodell..... | 85 |
| 4.6.1 | Nachweis von BPV in Hamstertumoren | 88 |
| 4.6.2 | Immunhistologische Charakterisierung der Hamstertumoren..... | 89 |
| 4.6.3 | Wirksamkeitsstudie..... | 90 |
| 4.6.3.1 | XXTerra™ | 90 |
| 4.6.3.2 | Cis-4-Hydroxy-L-Prolin (CHP)..... | 92 |
| 4.6.3.3 | Triapten* | 94 |
| 4.6.3.4 | Elasan* | 94 |
| 4.7 | Kasuistische Beschreibung von drei equinen Sarkoiden und deren Therapie mit XXTerra™ | 95 |

| | | |
|-----------|-----------------------------------------------------------------|------------|
| 5 | Diskussion | 98 |
| 6 | Zusammenfassung..... | 116 |
| 7 | Summary | 118 |
| 8 | Literaturverzeichnis..... | 120 |
| 9 | Anhang | 133 |
| 9.1 | BPV-1-Sequenz, aus dem equinen Sarkoid E 84/04..... | 133 |
| 9.2 | PTEN-cDNA-Sequenz, Pferd, aus dem equinen Sarkoid E 58/05 | 135 |
| 9.3 | Abkürzungsverzeichnis | 135 |
| 10 | Danksagung..... | 138 |