

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