

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	4
2.1 DAS OLFAKTORISCHE SYSTEM	4
2.1.1 Anatomie und Physiologie	4
2.1.2 Intranasale Virusinfektionen des ZNS und ihre Mechanismen	14
2.2 DIE ENDOPROTEASE FURIN	15
2.2.1 Vorkommen und Funktion	15
2.2.2 Bekannte Furininhibitoren und ihre Anwendungsgebiete	18
2.3 DIE BORNASCHE KRANKHEIT	30
2.3.1 Bornaviren	31
2.3.2 Klinik	44
2.3.3 Wirtsspektrum, Epidemiologie und Pathogenese	46
2.3.4 Experimentelle BoDV-1-Infektion von Ratten	55
3 MATERIAL UND METHODEN	59
3.1 DISSOZIATIONSKULTUR DES OLFAKTORISCHEN EPITHEL	59
3.1.1 Beschichtung der Deckgläser	59
3.1.2 Kulturbedingungen	60
3.1.3 Präparation der Dissoziationskultur	60
3.1.4 Inhibitor-Anwendung an der Dissoziationskultur nach BoDV-1-Infektion	62
3.1.5 Nachweis viraler RNA mittels quantitativer real time RT-PCR	65
3.2 ROLF B1.T – KULTUR PERMANENTER ADULTER OLFAKTORISCHER HÜLLZELLEN DER RATTE	71
3.2.1 Kultur	72
3.2.2 Inhibitor-Anwendung nach BoDV-1-Infektion	74
3.2.3 Nachweis viraler RNA mittels quantitativer real time RT-PCR	76
3.3 EXPERIMENTELLE INTRANASALE INHIBITOR-ANWENDUNG BEI BoDV-1-INFIZIERTEN LEWIS-RATTEN	76
3.3.1 Intranasale BoDV-1-Infektion und Inhibitor-Anwendung bei adulten Ratten	76
3.3.2 Pathohistologische Untersuchung der Versuchstiere	81
3.3.3 Immunhistologische Untersuchung der Gewebe	82
3.3.4 Nachweis viraler und genomischer RNA mittels quantitativer real time RT-PCR in der Nase und im Gehirn	86
3.4 IMMUNHISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG AUF ZELLTOD BEI EXPERIMENTELL INTRANASAL BoDV-1- UND MOCK-INFIZIERTEN LEWIS-RATTEN	88
3.4.1 Probenmaterial	88
3.4.2 Immunhistologischer Nachweis von aktivierter Caspase 3	88
3.4.3 Immunhistologischer Nachweis von AIF	89
3.4.4 Auswertung der Daten aus der immunhistologischen Untersuchung	90
3.4.5 Statistische Analyse der Daten aus der immunhistologischen Untersuchung	90
4 ERGEBNISSE	91
4.1 DISSOZIATIONSKULTUR DES OLFAKTORISCHEN EPITHEL	91
4.1.1 Inhibitor-Anwendung nach BoDV-1-Infektion	91
4.1.2 Nachweis viraler genomischer RNA (gRNA) und messenger RNA (mRNA)	98
4.2 ROLF B1.T – KULTUR PERMANENTER ADULTER OLFAKTORISCHER HÜLLZELLEN DER RATTE	99

|

4.2.1	Immunhistologischer Nachweis von p75.....	99
4.2.2	Infektion mit BoDV-1	100
4.2.3	Einfluss der Beschichtung auf das Zellwachstum und die Infektionsrate	102
4.2.4	Inhibitor-Anwendung nach BoDV-1-Infektion	104
4.2.5	Nachweis viraler genomischer und viraler messenger RNA	106
4.2.6	Vergleichende statistische Untersuchung zum Nachweis viraler genomischer und viraler messenger RNA <i>in-vitro</i>	107
4.3	EXPERIMENTELLE INTRANASALE INHIBITOR-ANWENDUNG BEI BoDV-1-INFIZIERTEN LEWIS-RATTEN.....	109
4.3.1	Klinik der Versuchstiere.....	109
4.3.2	Pathohistologische Befunde	110
4.3.3	Immunhistologischer Nachweis von BoDV-1-N	111
4.3.4	Nachweis viraler genomischer RNA und viraler messenger RNA in der Nase und im Gehirn der Versuchstiere	129
4.4	IMMUNHISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG ZUM NACHWEIS DES ZELLTODS BEI EXPERIMENTELL INTRANASAL BoDV-1- UND MOCK-INFIZIERTEN LEWIS-RATTEN	134
4.4.1	Immunhistologischer Nachweis von aktivierter Caspase 3 und AIF	134
5	DISKUSSION	137
5.1	WIRKUNG DES FURININHIBITORS MI-0701 AUF DIE BoDV-1-INFektion <i>IN-VITRO</i>	139
5.2	WIRKUNG DES FURININHIBITORS MI-0701 AUF DIE BoDV-1-INFektion <i>IN-VIVO</i>	147
5.2.1	Vergleichende Klinik und pathohistologische Befunde von Nase und Gehirn der Versuchstiere	148
5.2.2	Effekte des Inhibitors MI-0701 auf die Infektionsrate im olfaktorischen System	149
5.2.3	Effekte des Inhibitors MI-0701 auf die Infektionsrate im Gehirn	150
5.2.4	Korrelation des Nachweises von BoDV-1-N, viraler genomischer RNA und viraler messenger RNA	152
5.3	IMMUNHISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG ZUM NACHWEIS DES ZELLTODS	154
5.3.1	Einfluss der BoDV-1-Infektion auf den Zelluntergang im olfaktorischen Epithel	155
5.4	VERGLEICHENDE SCHLUSSBETRACHTUNG DER <i>IN-VITRO</i> - UND <i>IN-VIVO</i> -ERGEBNISSE	155
6	ZUSAMMENFASSUNG/SUMMARY	158
6.1	Zusammenfassung	158
6.2	Summary	162
7	LITERATURVERZEICHNIS.....	166
8	ANHANG	215
8.1	LÖSUNGEN UND PUFFER	215
8.1.1	Histologie	215
8.1.2	Immunhistologie und Immunfluoreszenz	215
8.2	BEZUGSQUELLEN.....	217
8.3	TABELLEN	221
8.3.1	Dissoziationskultur des olfaktorischen Epithels	221
8.3.2	ROLF B1.T – KULTUR PERMANENTER ADULTER OLFAKTORISCHER HÜLLZELLEN DER RATTE	226

8.3.3 Experimentelle intranasale BoDV-1-Infektion und intranasale Inhibitor- Anwendung an Lewis-Ratten	228
8.3.4 Immunhistologische Untersuchung zum Vorkommen von Zelltod bei experimentell intranasal BoDV-1- und Mock-infizierten Lewis-Ratten.....	239
8.4 ABKÜRZUNGEN	241
8.5 TABELLENVERZEICHNIS.....	243
8.6 ABBILDUNGSVERZEICHNIS	244