

1

Geschichtlicher Überblick

1.1 Seit wann kennen wir Viren?

Für die Krankheiten, die wir heute als Viruserkrankungen kennen, sah man ursprünglich „Gifte“ als Ursache an. Mit den damals üblichen Methoden ließen sich keine (krankheitserzeugenden) pathogenen Organismen wie Bakterien oder Protozoen in den „giftigen Materialien“ nachweisen. Erst gegen Ende des 19. Jahrhunderts legten Tierversuche, die von Louis Pasteur durchgeführt wurden und bei denen sich auch nach mehreren Passagen keine Ausverdünnung der giftigen Eigenschaften einstellte, nahe, dass das krankheitsauslösende Agens in der Lage war, sich im Organismus zu vermehren. Man sprach deshalb von einem in lebenden Organismen, später auch von einem in Zellen vermehrungsfähigen „Virus“ (lateinisch für „Gift“ oder „Schleim“). Im Jahre 1892 konnte Dimitri I. Iwanowski in St. Petersburg zeigen, dass die Mosaikkrankheit der Tabakpflanzen durch ein „ultrafiltrierbares“ und damit deutlich unter Bakteriengröße liegendes Agens verursacht wird: das *Tabakmosaikvirus*. (Bakterienfilter weisen eine Porenweite von etwa 0,2 Mikrometern auf, die meisten Viren messen dagegen weniger als 0,1 Mikrometer.) Martinus Willem Beijerinck kam bald darauf zu dem gleichen Schluss: Er entwickelte erstmals das Konzept eines selbst replizierenden, „flüssigen“ Agens („contagium vivum fluidum“). Der erste Nachweis eines tierpathogenen Virus gelang dann 1898 Friedrich Loeffler und Paul Frosch in Greifswald mit der Entdeckung des *Maul-und-Klauen-seuche-Virus*.

Rückblickend lässt sich allerdings belegen, dass bereits vor etwa 3 000 Jahren – ohne nähere Kenntnis des Erregers – Vorgehensweisen praktiziert wurden, die man heute als *Impfungen* gegen Viruserkrankungen bezeichnen würde. Im alten China, in Indien und auch in Ägypten müssen immer wieder verheerende Pockenepidemien aufgetreten sein; Pharao Ramses V. ist – wie seine Totenmaske zeigt – sehr wahrscheinlich an einer Infektion durch Pockenviren gestorben. Wie man damals

beobachtete, blieben Personen, welche die Krankheit einmal überstanden hatten, bei weiteren Epidemien verschont; in ihnen musste sich also bedingt durch die erste Erkrankung eine Art Schutz entwickelt haben – sie waren *immun*. Dieser Schutzzustand ließ sich auch künstlich herbeiführen: Übertrug man den getrockneten Schorf von Pocken auf noch nicht erkrankte Personen, dann waren diese zumindest teilweise vor den Pocken geschützt – eine Maßnahme, die wir heute als *Variolation* bezeichnen (die Pocken tragen fachsprachlich die Bezeichnung *Variola*; ► Abschnitt 19.6). Historische Beschreibungen weisen darauf hin, dass man die Pocken bereits damals als biologische Waffen eingesetzt hatte. Im 18. Jahrhundert stellte man in England und Deutschland fest, dass auch die Überwindung der Melkerknotenkrankheit, die durch einen mit dem Pockenvirus verwandten Erreger ausgelöst wird, Schutz vor den echten Pocken verleiht. Diese Beobachtungen müssen Edward Jenner 1796 bekannt gewesen sein, als er Schweine- und Kuhpockenmaterial als eine Art Impfstoff zunächst auf seinen erstgeborenen Sohn und dann auf James Phipps, einen jungen Kuhhüter, übertrug. Bei beiden Jungen blieben nachfolgende Expositionen mit dem humanpathogenen Pockenvirus durch Verimpfung von Pockeneiter ohne Reaktion; tatsächlich war also durch dieses erste „virologische Experiment“ ein Schutz erzeugt worden.

Von England breitete sich die Kenntnis dieser *Vakzination* – der Begriff ist vom lateinischen *vacca* für „Kuh“ abgeleitet – sehr rasch auf den europäischen Kontinent und in die USA aus. Mit den bald darauf folgenden gesetzlich vorgeschriebenen Impfungen – im damaligen Deutschen Reich wurde 1874 ein erstes Impfgesetz erlassen – gelang es, die gefürchtete Seuche allmählich einzudämmen. Es dauerte allerdings noch etwa 100 Jahre, bis sich 1977 in Somalia zum letzten Mal ein Mensch, Ali Maow Maalin, auf natürlichem Weg mit den Pocken infizierte, nachdem die WHO ein weltweites Impfprogramm durchgeführt hatte. Heute gilt die Krankheit als ausgerottet.

Auf einer ähnlichen Basis, also ohne genaue Kenntnis der Natur des Erregers, entwickelte Louis Pasteur 1885

in Paris einen Impfstoff gegen die Tollwut (► Abschnitt 15.1.5). Er hatte 1882 die Erkrankung, deren Ursache er in unbekanntem und unsichtbaren Mikroben sah, erstmals intracerebral auf Kaninchen übertragen. Wie er zeigen konnte, verlor der Erreger durch fortlaufende Übertragung in den Tieren seine krankheitserzeugenden Eigenschaften. Pasteur gewann hierdurch die Basis für ein Impfvirus (*virus fixe*), das sich im Gegensatz zu dem Wildtyperreger (*virus de rue*) durch eine konstante Inkubationsperiode auszeichnete. Verriebenes und getrocknetes Rückenmark von mit dem *virus fixe* inokulierten Kaninchen war nicht mehr infektiös, erzeugte aber (zunächst in Hunden) Schutz vor der Tollwut. 1885 verimpfte Pasteur dieses Material erstmals an einen neunjährigen elsässischen Jungen namens Joseph Meister, der zwei Tage vorher von einem tollwütigen Hund gebissen worden war und dank der Impfung überlebte.

1.2 Welche technischen Fortschritte haben die Entwicklung der modernen Virologie bestimmt?

Viren sind dem Menschen aufgrund ihrer geringen Größe lange verborgen geblieben. Die Auflösung der um 1900 von Ernst Abbé konstruierten Lichtmikroskope reichte nicht aus, um diese Krankheitserreger sichtbar zu machen; dies gelang erst mit dem 1940 von Helmut und Ernst Ruska entwickelten Elektronenmikroskop. Mit seiner Hilfe wurde erstmals die Struktur eines Virus, nämlich die des Tabakmosaikvirus, geklärt. Auch der (indirekte) Nachweis solcher sehr kleiner, auf künstlichem Nährboden nichtzüchtbarer Agenzien blieb so lange unmöglich, bis *bakteriendichte Ultrafilter* zur Verfügung standen. Diese erlaubten es schließlich, die Existenz vieler Viren zu zeigen: Walter Reed wies im Jahre 1900 das Gelbfiebertivirus als erstes humanpathogenes Virus nach, 1903 folgten die Kaninchenmyxom- und Tollwutviren. 1908 entdeckten Vilhelm Ellermann und Oluf Bang die Geflügelleukämie-, 1909 Karl Landsteiner und Emil Popper die Poliomyelitisviren, und 1911 fand Peyton Rous das nach ihm benannte Rous-Sarkom-Virus und damit das erste Virus, das in der Lage war, Tumorerkrankungen (in diesem Falle im Bindegewebe von Geflügel) zu induzieren. Dass Viren dazu fähig sind, hatte der französische Bakteriologe Amédée Borrel bereits 1903 vermutet.

Auch Bakterien können von ultrafiltrierbaren, übertragbaren Erregern befallen werden, wie Frederick Twort und Felix d'Herelle in den Jahren 1916 und 1917 entdeckten. Ihnen fiel vor allem die Fähigkeit dieser Agenzien auf, Bakterien zu lysieren; sie nannten sie deshalb *Bakteriophagen* – nach dem griechischen Wort *phagein* für „essen“. Die Erforschung der Natur der Bakteriophagen hat der Virologie in methodischer wie konzeptioneller Hinsicht wichtige Befunde und Anregungen geliefert. Viele der Schritte, die eine Virusinfektion charakterisieren – wie Adsorption und Penetration, die regulierte Genexpression mit früh und spät im Zyklus produzierten Proteinen sowie die Lysogenie mit der Existenz von Prophagen – wurden erstmals bei Untersuchungen an diesen Bakterienviren entdeckt.

1.2.1 Tierexperimente lieferten wichtige Erkenntnisse zur Pathogenese von Viruserkrankungen

Die Untersuchung der Viren und ihrer Eigenschaften war vor allem dadurch erschwert, dass sie sich anders als Bakterien nicht in künstlichen Nährmedien vermehren ließen. Man stellte jedoch fest, dass einige der aus erkrankten Personen isolierten Erreger auf Tiere übertragbar waren und sich in ihnen vermehrten. So war Wilhelm Grütter in Marburg schon im Jahre 1911 die Übertragung des Herpes-simplex-Virus von den Hautbläschen des Menschen auf die Cornea (Hornhaut) des Kaninchenauges gelungen. Die außerordentliche Empfänglichkeit von Frettchen ermöglichte 1933 erstmals die Isolierung des Influenza-A-Virus aus Nasen-/Rachenflüssigkeit eines Erkrankten durch Christopher Andrews, Wilson Smith und Patrick P. Laidlaw. Tierexperimente erbrachten aber auch aus anderer Sicht viele Erkenntnisse zur Pathogenese von Virusinfektionen. Richard E. Shope entdeckte 1935 das Papillomavirus des Kaninchens und damit das erste Tumorigen, das – wie sich später zeigte – ein DNA-Genom enthielt. Er vermutete, ein solches Virus könne als *Provirus* in einer latenten Form im Organismus vorkommen. Darüber hinaus ist ihm die Entdeckung zu verdanken, dass Karzinome der Haut aus gutartigen Papillomen hervorgehen können. Bösartige Tumoren entstehen also in zwei oder mehreren Schritten – eine heute allgemein akzeptierte Vorstellung. Shope hatte ferner beobachtet, dass die Karzinomhäufigkeit bei verschiedenen Kaninchenrassen variiert und genetische Eigenschaften des Wirtes die Krebsentstehung demnach beeinflussen.

Im Rahmen von Tierversuchen machte Erich Traub 1935 in Princeton beim Studium des Virus der lympho-

cytären Choriomeningitis eine wichtige Beobachtung: Wurden trächtige Mäuse mit dem Virus infiziert, erfolgte eine Übertragung auf die Embryonen; die Muttertiere erkrankten an einer Hirnhautentzündung (Meningitis) und bildeten im weiteren Verlauf schützende Antikörper. Die neugeborenen Mäuse blieben dagegen gesund, schieden aber lebenslang große Virusmengen aus, ohne eine spezifische Immunantwort gegen die Erreger zu entwickeln. Damit hatte man das erste Beispiel für eine durch ein Virus ausgelöste *Immuntoleranz* entdeckt, allerdings ohne die allgemeine Bedeutung dieses Phänomens zu erkennen und den heute gängigen Begriff zu prägen (► Abschnitt 16.1.5). Die lymphocytäre Choriomeningitis erwies sich später als immunologisch bedingte Erkrankung. Rolf M. Zinkernagel und Peter C. Doherty haben 1974 an diesem Modell erstmals die Restriktion von cytotoxischen T-Lymphocyten für einen bestimmten, genetisch verankerten Typ von MHC-Proteinen gezeigt. Durch die oben erwähnten Experimente von Traub war aber auch zum ersten Mal die *intrauterine Übertragung* eines Virus gezeigt worden. Dies warf die Frage nach ähnlichen Infektionswegen beim Menschen auf. Tatsächlich beobachtete dann 1941 Sir Norman Gregg in Australien nach einer schweren Rötelnepidemie Embryopathien, wenn Schwangere von der Infektion betroffen waren. Wie man später nachwies, waren diese Fehlbildungen die Folge intrauteriner Übertragungen des Rötelnvirus.

1947 erfolgte die Entdeckung der Coxsackieviren, nachdem man virushaltige Stuhlextrakte auf neugeborene Mäuse übertragen hatte (Coxsackie ist ein Ort im US-Bundesstaat New York). Wenig später gelang Ludwik Grosz in New York aus Blutzellen die Isolierung und der Nachweis der Leukämieviren der Maus. Neben der Wichtigkeit für die Tumorforschung weckten diese Beobachtungen auch das Interesse an der Frage, worin die Basis der hohen Empfänglichkeit neugeborener Tiere für Virusinfektionen liegen könnte, und regten Untersuchungen zur angeborenen Resistenz eines Organismus gegenüber Infektionen sowie zum Zeitpunkt ihrer Entstehung und zu ihren Ursachen an.

1.2.2 Die Zellkultur stellt eine unverzichtbare Grundlage für die Virusforschung dar

Umständliche und zeitraubende Tierversuche waren anfangs die einzige Möglichkeit, die Existenz von Viren nachzuweisen. Man suchte deshalb schon früh nach einfacheren Methoden. Einen Weg wies die Beobachtung so genannter *Einschlusskörperchen* in virusinfizierten Ge-

weben, die bald als Hinweis für eine Vermehrung der Erreger gewertet wurden; wie man heute weiß, handelt es sich hierbei um Ansammlungen von Virusproteinen und -partikeln im Cytoplasma oder im Zellkern. Die ersten Einschlusskörperchen fand Dimitri I. Iwanowski. Zur gleichen Zeit entdeckte Guisepepe Guarnieri ähnliche Ablagerungen in mit Pockenviren infizierten Zellen, 1903 dann Adelchi Negri die später nach ihm benannten Einschlusskörperchen in Ganglienzellen tollwutkranker Tiere. Damit standen zumindest für einige Viruskrankheiten einfache färberische Nachweisverfahren zur Verfügung. Methoden zur Züchtung der Viren hatte man jedoch erst später zur Hand.

In den Dreißigerjahren des 20. Jahrhunderts fand man heraus, dass sich *bebrütete Hühnereier* für die Vermehrung mancher Viruspezies eignen. Zwischen 1918 und 1920 forderte eine pandemisch auftretende Viruserkrankung, die *Spanische Grippe* (Influenza), weltweit mehr als 20 Millionen Todesopfer – mehr als der Erste Weltkrieg. Nach der Züchtung der verantwortlichen Viren in bebrüteten Hühnereiern im Jahre 1933 wurden 1941 ihre hämagglutinierenden Fähigkeiten (also ihr Vermögen, rote Blutkörperchen zu verklumpen) entdeckt und damit der Grundstein für die Entwicklung von Hämagglutinationstests zum Virusnachweis gelegt. Als weiterer wichtiger Schritt in der Geschichte der modernen Virologie erwiesen sich die ersten *Ultrazentrifugen*, die etwa zur gleichen Zeit zur Verfügung standen; durch sie wurden die Sedimentation der kleinen Viruspartikel und ihre Konzentrierung möglich. Den Durchbruch bei der Aufklärung des pathogenetischen Wirkmechanismus der Influenzaviren brachten jedoch erst molekularbiologische Verfahren, die es erlaubten, das genetische Material dieser Erreger zu untersuchen, das in Form einzelsträngiger RNA-Segmente vorliegt. Ihre Sequenzierung offenbarte die genetischen Ursachen für die bis dahin unverstandene Fähigkeit der Influenzaviren, ihre antigenen Eigenschaften in periodischen Abständen zu verändern (► Abschnitt 16.3.5).

Vor allem war es aber die in erster Linie aus Spendenmitteln geförderte Erforschung der Kinderlähmung (Poliomyelitis; ► Abschnitt 14.1.5), welche entscheidende neue Erkenntnisse erbrachte. Sie stellt rückblickend den eigentlichen Übergang zur molekularbiologischen Untersuchung von Virusinfektionen dar. Die starke Zunahme der an Kinderlähmung Erkrankten und Gestorbenen – eine Folge des gesteigerten Hygienestandards und der damit einhergehenden Verschiebung der Durchseuchung in spätere Lebensjahre – bewirkte in den USA zu Beginn der Dreißigerjahre die Gründung der National Polio Foundation durch Franklin D. Roosevelt, der selbst ein Opfer dieser Krankheit war. Mit den eingeworbenen Mitteln konnte ein großes Forschungs-

programm initiiert werden, dessen Krönung 1949 die Entdeckung des *cytopathischen Effekts* (CPE) durch John F. Enders, Thomas H. Weller und Frederick C. Robbins war.

Hugh B. und Mary C. Maitland hatten bereits 1928 die Methode der *Gewebekultur* eingeführt, bei der sie die Zellen kleiner Gewebestückchen in serumhaltigen Flüssigkeiten kultivierten und mit Vacciniaviren infizierten. Die erfolgte Replikation der Viren wurde dann im Tierversuch oder durch das Vorhandensein von Einschlusskörperchen nachgewiesen. Als in den vierziger Jahren Antibiotika zur Verfügung standen, konnte man bakterielle Kontaminationen in den Kulturen weitgehend vermeiden; dies führte zu einer deutlich einfacheren Handhabung dieser Methode. Das Poliovirus wurde in embryonalen menschlichen Zellen von festsitzenden Nierengewebestückchen gezüchtet, und dabei stellten sich leicht erkennbare Zellveränderungen ein. Dieser zunächst nur diagnostisch wertvolle cytopathische Effekt trieb die Entwicklung der Virologie weiter voran. Er war die Grundlage für den *Plaque-Test*, den Renato Dulbecco und Margarete Vogt im Jahre 1952 entwickelten; hierdurch war erstmals die quantitative Bestimmung der Zahl der infektiösen Partikel in der Zellkultur möglich. Mit der Fähigkeit, Polioviren unter kontrollierbaren Bedingungen *in vitro* zu züchten, war auch die Basis für die Entwicklung der beiden Polioimpfstoffe gelegt: Der von Jonas E. Salk entwickelte Totimpfstoff und die Lebendvakzine mit attenuierten, das heißt abgeschwächten Polioviren, die Albert B. Sabin etablierte, sind noch heute in Gebrauch. Nach dem von Sabin angewandten Prinzip wurden später auch die Impfstoffe gegen Masern, Röteln, Windpocken und Mumps hergestellt.

Durch die Methode der Zellkultur gelang es, auch Gelbfieber-, Vaccinia- und Tollwutviren *in vitro* zu züchten. 1953 isolierte Wallace P. Rowe aus Kulturen von menschlichem Tonsillengewebe nach längerer Kultivierungsdauer die Adenoviren. Eine Fortentwicklung zur Viruszüchtung *in vitro* bot die Methode der *Kokultivierung*, das heißt die Zugabe von Indikatorzellen zu den Gewebekulturen, die durch Auftreten eines cytopathischen Effekts die erfolgte Replikation eines Virus anzeigen. Auf diese Weise gelang 1971 der Nachweis des Herpes-simplex-Virus in latent infizierten Spinalganglien des Menschen; der direkte Virusnachweis war hingegen damals noch nicht möglich. Bis dahin hatte man allgemein angenommen, dass im Verlauf einer Virusinfektion der Erreger durch die entstehenden Antikörper völlig aus dem Organismus eliminiert wird. Das Auftreten von Herpesbläschen als Rezidivkrankheit bei Personen mit Antikörpern – bekannt als *immunologisches Herpes-Paradoxon* – brachte diese Vorstellungen zu Fall (► Abschnitt 19.5). Bereits vorher hatte Ernest W. Good-

pasture vermutet, dass die Trigeminusganglien eine „latente“ Form des Virus enthalten müssten. Nachdem dann durch Kokultivierung ein solches Virus nachgewiesen worden war, erkannte man, dass es bei etlichen Infektionen *latente* oder *persistierende Viren* geben muss, die – oft unabhängig von Krankheitsanzeichen – intermittierend (beispielsweise die Herpes-simplex-Viren) oder permanent (wie das Epstein-Barr-Virus; EBV) ausgeschieden werden. Durch Kokultivierung mit geeigneten T-Lymphocyten gelang auch die Erstisolierung des humanen Immundefizienzvirus (HIV-1) aus der Lymphknotenbiopsie eines AIDS-Erkrankten.

1.2.3 Die moderne Molekularbiologie ist auch ein Kind der Virusforschung

Parallel zu den eher vom praktischen Nutzen geprägten Entwicklungen zur Züchtbarkeit der Viren gewann das Interesse an allgemein biologischen Fragen zunehmend an Bedeutung. 1935 war Wendell Stanley in Kalifornien die Kristallisierung des Tabakmosaikvirus aus flüssigen Medien gelungen; diese Ergebnisse regten Diskussionen darüber an, ob es sich bei den Viren um tote oder lebendige Materie handelt. Die Hauptfrage betraf aber die Natur und Struktur des genetischen Materials, das sich 1944 durch die Experimente von Oswald T. Avery, Maclyn McCarty und Colin McLeod an Pneumococcen als Nucleinsäure herausstellte. Alfred D. Hershey und Martha Chase gelang 1952 der Nachweis, dass bei Infektionen mit T4-Phagen nur die DNA, nicht aber die Proteinhülle der Viren in die Bakterienzelle eindringt. Damit war bewiesen, dass Nucleinsäuren die Träger der genetischen Information sind. Einige Jahre später, nämlich 1955, zeigten Gerhard Schramm und Heinz Fraenkel-Conrat unabhängig voneinander am System des Tabakmosaikvirus, dass auch RNA infektiös sein kann. Schramm hatte mit seinen Mitarbeitern bereits 1944 in Deutschland beschrieben, dass das Tabakmosaikvirus aus RNA und Proteinen besteht – diese Daten fanden zuerst aber nur wenig Beachtung. Die von Edwin Chargaff erarbeiteten Daten über die Basenverhältnisse in DNA-Molekülen ($T = A$ und $G = C$) ermöglichten 1953 James D. Watson und Francis H. Crick in Verbindung mit den Röntgenstrukturanalysen Rosalind Franklins, ihr Modell der *DNA-Doppelhelix* zu entwickeln. Matthew Meselson und Franklin W. Stahl zeigten 1958, dass die DNA bei der Zellteilung semikonservativ verdoppelt wird. Mit diesen fundamentalen Erkenntnissen war die Möglichkeit für die Aufklärung der molekularbiologischen Prozesse geschaffen, die heute allgemein geläufig

sind. Die inzwischen gebräuchlichen molekulargenetischen, biochemischen und immunologischen Methoden ermöglichen den Virusnachweis in den Organen und das Studium der Ausbreitung im Organismus. Die Funktion und Wirkung viraler Gene lässt sich isoliert und im Zusammenspiel mit anderen Virus- oder Zellkomponenten erforschen. Viele Viren kann man heute *in vitro* in großen Mengen züchten, um ihre Morphologie und den Partikelbau aufzuklären und die Basenfolgen ihrer Erbinformation zu entschlüsseln. Für nicht anzüchtbare Viren stehen moderne molekularbiologische Methoden zur Verfügung, mittels derer auch diese Erreger analysiert werden können. Virus-Zell-Wechselwirkungen können untersucht werden und ermöglichen wichtige Einblicke in die viralen Replikationsmechanismen. Andererseits sind auch viele der molekularen Prozesse in eukaryotischen Zellen durch den Einsatz von Viren als Werkzeuge der Zellforschung aufgeklärt worden. So hat man bei den Adenoviren erstmals den Vorgang des *RNA-Spleißens* beschrieben, über den weit auseinander liegende Genabschnitte nach der Transkription in unterschiedlicher Weise zu mRNA-Molekülen zusammengesetzt werden. Dass die DNA im Zellkern zusammen mit Histonproteinen in Nucleosomenstrukturen angeordnet ist, wurde ebenfalls erstmals bei einem Virus entdeckt, dem SV40. Auch *Enhancer* – bestimmte DNA-Abschnitte, die orientierungs- und lokalisationsunabhängig die Expression bestimmter Gene verstärken – wurden ursprünglich im Virussystem beschrieben. Etliche dieser viralen Regulationselemente wurden für alternative Zwecke eingesetzt: So ist die heute wohl am häufigsten in kommerziell erhältlichen Vektoren zur Kontrolle der Fremdgenexpression verwendete Promoter-/Enhancersequenz vom Cytomegalievirus abgeleitet; dieser *immediate early*-Promotor/-Enhancer kontrolliert eigentlich die Expression der sehr frühen Gene des Virus (► Abschnitt 19.5). Auch der Transfer von Nucleinsäuresequenzen und Fremdgenen mittels *viraler Transduktion*, beispielsweise unter Einsatz von Vektorsystemen, die auf den Funktionen der Adeno- oder Retroviren basieren, ist heute ein unverzichtbarer Bestandteil der Molekular- und Zellbiologie sowie auch bei der Entwicklung gentherapeutischer Verfahren.

1.3 Worin besteht die Bedeutung der Henle-Kochschen Postulate?

Bei der Beschäftigung mit der Epidemiologie und Pathogenese von Infektionskrankheiten stellt sich die

grundlegende Frage, wie man beweisen kann, dass eine Erkrankung durch eine Infektion mit einem Bakterium oder einem Virus verursacht wird. Robert Koch hatte aus seinen 1882 bis 1890 durchgeführten Arbeiten mit Milzbrandbakterien vier Postulate abgeleitet, die zuvor sein Lehrer Jacob Henle aus dem Studium der sogenannten Miasmen und Kontagien, das heißt der belebten oder unbelebten Krankheits- und Ansteckungstoffe, als Hypothese entwickelt hatte:

1. Ein Krankheitserreger muss sich in allen Fällen bei einer bestimmten Krankheit nachweisen lassen, wohingegen er beim Gesunden immer fehlen muss.
2. Der Krankheitserreger muss sich auf Nährböden oder in geeigneten Zellkulturen züchten lassen und zwar in Form von Reinkulturen.
3. Gesunde Tiere müssen nach der Inokulierung des Erregers die gleiche Krankheit entwickeln.
4. Außerdem muss die Reisolierung des Erregers aus den Tieren gelingen.

Bereits Koch hatte festgestellt, dass sich nicht in jedem Fall alle Postulate erfüllen lassen; er erkannte, dass es gesunde Träger und Dauerausscheider gibt und dass eine Normalflora von Bakterien existiert, die nur fakultativ pathogen ist. Im Bereich der Virologie erfüllen nicht alle Erreger diese Postulate. Positive Beispiele stellen die Masernviren (► Abschnitt 15.3.5), die Pockenviren der Menschen (► Abschnitt 19.6.5) beziehungsweise die Parvoviren von Hund und Katze (► Abschnitt 20.1.6) oder das Virus der klassischen Schweinepest (► Abschnitt 14.5.6) dar. In Bezug auf Viruserkrankungen hat Charles Rivers 1937 Modifikationen der Postulate vorgeschlagen. Die vorgesehenen Ausnahmen betreffen vorzugsweise latente oder persistierende Virusinfektionen sowie die Tatsache, dass sich Gewebe- und Organerstörungen oder Tumorbildungen als Infektionsfolgen nicht immer reproduzieren lassen.

Aus der Epidemiologie übernommen stellen die von Alfred S. Evans 1976 formulierten „Evans-Postulate“ eine wertvolle Ergänzung dar (► Tabelle 11.1). Sie zeigen die ätiologische Bedeutung eines Erregers für ein Krankheitsbild, wenn unter anderem der Erreger in einem exponierten Kollektiv signifikant häufiger nachgewiesen wird und das Krankheitsbild in diesem Kollektiv häufiger auftritt als in einem nichtexponierten. Ebenso sollte eine Immunantwort in den betroffenen Kollektiven regelmäßig nachweisbar sein. Die Evans-Postulate erweisen sich vor allem bei multifaktoriellen Infektionskrankheiten als wertvoll, wie beispielsweise dem Zwingerhusten der Hunde oder der Infektion der Schweine mit dem porcinen Circovirus (► Abschnitt 20.2.6).

Die Weiterentwicklung virologischer und immunchemischer Nachweisverfahren in den letzten Jahren hat

es ermöglicht, für die kausale Beziehung zwischen einem Virus und einer Krankheit zusätzliche Kriterien heranzuziehen. Hierzu gehören der Nachweis einer spezifischen humoralen oder zellulären Immunantwort gegen den Erreger, also von IgM- oder IgG-Antikörpern und spezifisch stimulierbaren Lymphocyten, der Nachweis von viralen Proteinen, Enzymaktivitäten, DNA oder RNA durch *in vitro*- und *in situ*-Methoden. Vor allem für die ätiologische Verknüpfung von persistierenden Virusinfektionen mit Tumorerkrankungen ist der spezifische Nachweis von viralen Nucleinsäuren in Geweben essenziell. Die Erfüllung der Kochschen Postulate beziehungsweise ihrer Modifikationen ist nach wie vor unabdingbar für die Erstellung ätiologischer Beziehungen zwischen Erreger und Wirt.

1.4 In welcher Wechselbeziehung steht die Virusforschung mit Krebsforschung, Neurobiologie und Immunologie?

1.4.1 Viren können Zellen transformieren und Krebs verursachen

Bereits 1911 war für das Rous-Sarkom-Virus bewiesen worden, dass Viren Tumorerkrankungen verursachen können. 1959 beobachteten Margarete Vogt und Renato Dulbecco sowie Leo Sachs und Ernest Winocour bei *in vitro*-Untersuchungen die Transformation von gutartigen zu malignen Zellen bei einer Infektion mit dem Polyomavirus der Maus. Nach der Inokulation in Tiere erzeugten diese Zellen wiederum Tumoren. Kurze Zeit danach entdeckte man, dass auch das Rous-Sarkom-Virus Zellen *in vitro* transformieren kann. So wurde die Tumorforschung zu einem treibenden Element der Virologie. Auch der Erforschung der Krebsentstehung gab und gibt sie in gedanklicher und methodischer Hinsicht entscheidende Impulse. Die Experimente mit dem tumorerzeugenden Polyomavirus hatten außerdem ergeben, dass man seine Verbreitung in Mauspopulationen durch *serologische Verfahren* verfolgen kann. Dies weckte die Hoffnung, mit den klassischen Methoden der Epidemiologie wie Virusisolierung und Antikörpernachweis die Krebsentstehung auf virale Agenzien

zurückführen und studieren zu können. Im Tiersystem erbrachte vor allem die Erforschung der onkogenen Retroviren wichtige Erkenntnisse zum Verständnis der molekularen Vorgänge, die zur Entstehung von Tumoren führen (► Abschnitt 18.1). Howard Temin und David Baltimore entdeckten 1970 beim Studium der onkogenen Retroviren die *reverse Transkriptase* – ein Enzym, das die einzelsträngige RNA der Retroviren in doppelsträngige DNA umschreibt. Nach der *Integration* der viralen Erbinformation in das Wirtsgenom verlieren diese Viren ihre Individualität. Bereits einige Jahre zuvor hatte Temin beschrieben, dass ein Hemmstoff der DNA-Synthese die Replikation des Rous-Sarkom-Virus verhindert, was bei einem typischen RNA-Virus nicht der Fall sein sollte. Die Integration eines Virusgenoms, das dann als *Provirus* vorliegt, wurde mit der Entstehung von Tumoren in Verbindung gebracht. Dieses Ereignis unterbricht die Kontinuität des Genoms der Zelle; zelluläre und virale Gene können amplifiziert, zerstört oder ihre Expression kann durch Neukombination mit viralen Promotoren aktiviert werden.

Bereits Richard E. Shope hatte – wie oben erwähnt – beschrieben, dass Karzinome durch einen zwei- oder mehrstufigen Prozess aus Papillomen entstehen. Die Entwicklung des durch humane Papillomaviren verursachten Cervixkarzinoms sowie diejenige der primären Leberkarzinome, die durch Hepatitis-C- oder Hepatitis-B-Viren hervorgerufen werden, verläuft ähnlich. Auch das Epstein-Barr-Virus entfaltet seine tumorerzeugende Wirkung auf komplexe Weise: In den Tumorzellen des Nasopharynxkarzinoms und zahlreicher Lymphome (afrikanisches Burkitt-Lymphom) ist die DNA des Virus nachweisbar. Die Zellen sind infiziert und immortalisiert, produzieren jedoch keine infektiösen Viruspartikel. In den B-Zell-Lymphomen findet man außerdem Translokationen von Chromosomenteilen (► Abschnitt 19.5). Zu einer malignen Entartung kommt es jedoch erst in einem Vielschritt-Prozess durch das Zusammenwirken mit anderen Faktoren wie der Malariaerkrankung, die zu einer chronischen Stimulierung von Zellen beiträgt.

Die Erforschung der molekularen Vorgänge, die bei Infektionen mit Papilloma-, Hepatitis-B- und Retroviren ablaufen, hat dazu geführt, dass heute Impfstoffe zur Verfügung stehen. Diese bewirken einen Schutz vor der jeweiligen Infektion und sind somit in der Lage, auch die Langzeitfolgen, also die Krebserkrankung zu verhindern. Einen signifikanten Rückgang des durch Hepatitis-B-Virusinfektionen verursachten primären Leberkarzinoms zeigt die von der WHO geförderte Impfstrategie in Südostasien, die vor 25 Jahren eingeleitet wurde (► Abschnitt 19.1). In der Tiermedizin zeigten Impfstoffe gegen die feline Leukämieviren, dass Katzen vor

Infektionen durch diese exogenen Retroviren geschützt und die Tumorbildung so verhindert werden kann (► Abschnitt 18.1). Die detaillierte Erforschung der Molekularbiologie und Pathogenese der Infektionen durch humane Papillomaviren durch die Arbeitsgruppe um Harald zur Hausen am Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) ermöglichte es, entsprechende Impfstoffe zu entwickeln. Diese sind seit einigen Jahren verfügbar und schützen vor Infektionen mit den hoch onkogenen Papillomavirustypen: Sie verhindern damit zukünftig die Ausbildung des Cervixkarzinoms – eine der häufigsten Krebserkrankungen bei Frauen (► Kapitel 10 und Abschnitt 19.3). Im Oktober 2008 wurde Harald zur Hausen für diese Arbeiten der Nobelpreis für Medizin verliehen.

1.4.2 Als Spätfolge von Slow-Virus-Infektionen treten Erkrankungen des zentralen Nervensystems auf

Der Begriff der langsamen oder *Slow-Virus*-Infektionen wurde erstmals 1954 von Björn Sigurdsson für die Maedi-Erkrankung der Schafe in Island geprägt. Das Maedi-Visna-Virus verursacht nach sehr langen Inkubations- und Latenzperioden in einem langsamen, aber progressiven Krankheitsverlauf respiratorische Symptome. Das Maedi-Visna-Virus stand dabei Modell für eine Reihe von Erregern, die Krankheiten mit einem ähnlich protrahierten Verlauf verursachen (► Kapitel 18.1.6).

Die Erforschung ihrer Pathogenese zeigte, dass die Mehrheit der Slow-Virus-Infektionen durch Erreger ausgelöst wird, die üblicherweise mit anderen Erkrankungen verbunden sind. Slow-Virus-Infektionen wirken sich überwiegend im zentralen Nervensystem aus und werden beispielsweise von Masern- und JC-Viren verursacht. Die subakute sklerosierende Panencephalitis (SSPE) ist vermutlich durch Mutationen in Genen des Masernvirus bedingt, die zur Entstehung von defekten Viruspartikeln führen (► Abschnitt 15.3.5). Bei der durch das JC-Virus ausgelösten progressiven multifokalen Leukoencephalopathie (PML) gelangt das Virus anscheinend sehr früh in das Gehirn und persistiert dort lange, ehe die Krankheit bedingt durch eine Schädigung des Immunsystems (beispielsweise durch Infektionen mit dem humanen Immundefizienzvirus) ausbricht (► Abschnitt 19.2.5). Infektionen mit dem humanen Immundefizienzvirus (HIV) können ebenfalls als Slow-Virus-Erkrankung betrachtet werden. Desgleichen verlaufen die Prionerkrankungen nach dem Muster einer Slow-Virus-Infektion, jedoch sind sie durch einen nicht-

viralen Erreger verursacht und haben einen grundsätzlich anderen Pathogenitätsmechanismus (► Kapitel 21).

1.4.3 Interferone stimulieren die Immunabwehr von Virusinfektionen

Bei Arbeiten über das Gelbfiebertvirus entdeckten M. Hoskins, G. M. Findlay und F. O. MacCallum 1935 das Phänomen der *Interferenz*: Wurde ein avirulentes Virus in ein Versuchstier injiziert, war das Tier vor den Folgen der Infektion durch einen virulenten Stamm geschützt, wenn diese innerhalb der nächsten 24 Stunden, also noch vor dem Einsetzen einer Immunreaktion, erfolgte. 1957 zeigten Alick Isaacs und Jean Lindenmann in London, dass *Interferon* für die Interferenz verantwortlich ist. Es ist artspezifisch, induzierbar und gehört zu einer Substanzgruppe, die man heute als *Cytokine* zusammenfasst. Interferone spielen bei der primären, unspezifischen Abwehr von Virusinfektionen und bei der Stimulierung des Immunsystems eine große Rolle. Überraschung löste die Beobachtung aus, dass antiviral wirkende Interferonpräparate *tumorhemmend* wirken. Allgemein entstehen Cytokine dann, wenn sich ein geeigneter Induktor als Ligand an seinen Rezeptor auf der Zellmembran bindet und so in der Zelle bestimmte Signalübertragungen auslöst (► Kapitel 8).

1.5 Welche Strategien liegen der Entwicklung antiviraler Chemotherapeutika zugrunde?

Seit etwa 1960 versucht man, antiviral wirkende Chemotherapeutika zu entwickeln. Im Rückblick lässt sich diese Suche bis heute in drei Stadien einteilen: Die ersten erfolgreichen Experimente zur Therapie einer Virusinfektion führten Josef Wollensak und Herbert E. Kaufman um 1960 bei der *Keratitis herpetica* durch. Sie verwendeten Substanzen, welche die Virusreplikation *in vitro* hemmen und die man aus der experimentellen Tumorthherapie kannte. Die *Selektivität* dieser Stoffe, das heißt ihre Fähigkeit, spezifisch die viralen, nicht aber die zellulären Prozesse zu beeinflussen, war jedoch nur gering, die Substanzen also sehr zelltoxisch. Nachdem man viruscodierte Enzyme wie Thymidinkinasen, DNA-Polymerasen und Proteasen entdeckt hatte, konnte man die Entwicklung spezifischer Hemmstoffe

angehen. Durch *gezielte Empirie* – das heißt, man versuchte unter vielen wirkungsähnlichen Substanzen eine zu finden, die mit hoher Selektivität die Virusvermehrung beeinflusst – fand man antivirale Wirkstoffe wie Amantadin gegen Influenza-A-Viren (► Abschnitt 16.3) sowie Aciclovir und Acycloguanosin (ACG) gegen Herpes-simplex-Viren (► Abschnitt 19.5). Die von Gertrude Elion und ihren Mitarbeitern entwickelte Möglichkeit, Acycloguanosin als systemisch anwendbare und selektiv antiviral wirkende Substanz bei der Herpes-Encephalitis einzusetzen, war ein wichtiger Meilenstein der chemotherapeutischen Forschung. Ihre Arbeiten wurden 1988 mit der Verleihung des Nobelpreises gewürdigt. Als man DNA-Sequenzen analysieren konnte, trat die experimentelle Chemotherapie der Virusinfektionen in ihr drittes Stadium. Man entdeckte viruscodierte Enzyme wie die retrovirale Protease und die Neuraminidase der Influenzaviren und konnte durch den Vergleich mit Proteinen ähnlicher Funktion und bekannter dreidimensionaler Struktur Modelle der Enzyme konstruieren. So lassen sich potenziell aktive Zentren identifizieren und gezielt Substanzen, auch als „Designer“-Medikamente bekannt, entwickeln, die in diese hineinpassen und das Enzym hemmen. Das bedeutet ein Abweichen von der rein empirischen Forschung und ist ein erster Schritt hin zu einer rationalen Entwicklung antiviral wirkender Substanzen (► Kapitel 9).

1.6 Welchen Herausforderungen der Zukunft muss sich die moderne Virologie stellen?

Die molekulare Virologie verzeichnete in den letzten Jahrzehnten bedeutende Erfolge: Viele Infektionserkrankungen lassen sich durch den Einsatz von modernen Impfstoffen verhindern oder sogar ganz ausrotten (► Kapitel 10). Dies ermöglichte letztendlich die weltweite Elimination von Infektionserregern wie den Variolaviren (Pocken). Die für die Kinderlähmung ursächlichen Polioviren treten zumindest auf einigen Kontinenten nicht mehr auf und sind momentan auf weniger als zehn Länder weltweit beschränkt. In den Fällen, in welchen bis heute keine vorbeugende Vakzinierung möglich ist – als Beispiele seien HIV und Vertreter der Herpesviren wie die Cytomegalie- und die Herpes-simplex-Viren erwähnt – stehen eine Vielzahl von antiviralen Therapeutika zur Verfügung. Diese ermöglichen

zwar keine Heilung, jedoch eine weitgehende Beherrschung der Symptome. Diese Erfolge können zu der Annahme verleiten, dass die wissenschaftliche Beschäftigung mit Viren heute unnötig geworden ist. Die Einschätzung der Seuchenlage durch die WHO und die vielen reißerischen Schlagzeilen der Tageszeitungen und Medien, mit welchen wir immer wieder konfrontiert werden, besagen jedoch das Gegenteil. Aufgrund des häufigen und schnellen Mutationsgeschehens unterliegen Viren einer kontinuierlichen Wandlung und Neuentwicklung: Viren setzen sich ständig mit dem infizierten Organismus und dessen Immunsystem auseinander und versuchen, dieses zu unterlaufen. Vor allem die Viren, die im Organismus persistieren, können immunologischen Abwehrstrategien sehr geschickt ausweichen.

Die weltweit zunehmende Reisetätigkeit führt nicht nur zu Kontakten mit für den einzelnen Menschen neuen Infektionserregern, sondern auch zu ihrer rasanten Verbreitung. Dies zeigen beispielsweise die Infektionen mit den SARS-Viren (► Abschnitt 14.8), die Pandemie mit der neuen Variante der Influenza-A-Viren (mexikanische Grippe, „Schweinegrippe“ oder pandemische Influenza A (H1N1) 2009) oder das bedrohliche Potenzial neuer, für den Menschen hochpathogener Influenzaviren (► Abschnitt 16.3). Neue und neuartige Viruserkrankungen, die ihren Ursprung aus dem Tierreich haben (Zoonosen), sind auch durch die zunehmenden ökologischen Veränderungen und ihre schwerwiegenden Folgen zu erwarten. Beispiele hierfür sind die Ausbrüche von Infektionen mit Ebola-, Nipah- und Hendraviren. Durch Abholzung der Regenwälder kam es zu veränderten Lebensbedingungen für Fledermäuse, die dann Pferde und Schweine und über diese Zwischenwirte auch Menschen infizierten. Vögel brachten das West-Nile-Virus von Afrika nach Nordamerika, das Vogelgrippe-Virus H5N1 gelangte über Zugvögel von Asien nach Europa. Letztendlich ist auch die durch das humane Immundefizienzvirus ausgelöste AIDS-Pandemie ursprünglich das Resultat einer zoonotischen Übertragung vom Affen auf den Menschen, gefolgt von einer effizienten Weiterverbreitung innerhalb der menschlichen Population.

Die Bedrohung durch sowohl neue als auch schon bekannte Virusinfektionen wird auch aufgrund einer, insbesondere in den Industrieländern zunehmenden, Impfmüdigkeit nicht abnehmen – den im Bereich der molekularen Virologie forschenden Wissenschaftlern wird sich auch weiterhin ein weites Betätigungsfeld bieten.

1.7 Weiterführende Literatur

- Behbehani, A. M. *The Smallpox Story in Words and Pictures*. Kansas (University of Kansas Press) 1988.
- Evans, A. S. *Causation and Disease. The Henle-Kochschen Postulates Revisited*. In: *Yale Journal of Biology and Medicine* 49 (1976) S. 175–195.
- Hopkins, D. R. *Princes and Peasants. Smallpox in History*. Chicago (The University of Chicago Press) 1983.
- Krüger, D. H.; Schneck, P.; Gelderblom, H. R. *Helmut Ruska and the Visualisation of Viruses*. In: *Lancet* 355 (2000) S. 1713–1717.
- Kruif, P. de. *Mikrobenjäger*. Frankfurt, Berlin, Wien (Ullstein) 1980.
- Levine, A. J. *Viren. Diebe, Mörder und Piraten*. Heidelberg (Spektrum Akademischer Verlag) 1992.
- Müller, R. *Medizinische Mikrobiologie. Parasiten, Bakterien, Immunität*. 4. Aufl. Wien, Berlin, München (Urban und Schwarzenberg) 1950.
- Waterson, A. P.; Wilkinson, L. *History of Virology*. Cambridge (Cambridge University Press) 1978.
- Williams, G. *Virus Hunters*. New York (Alfred A. Knopf) 1967.