

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	13
1.1	Angeborene Immunität.....	13
1.1.1	Komponenten des angeborenen Abwehrsystems.....	13
1.1.2	Pathogen-assoziierte Moleküle (PAMPs).....	13
1.1.3	Toll-like Rezeptoren.....	14
1.1.4	Die endosomalen TLRs 7 und 9.....	18
1.1.5	Die Bedeutung der TLRs für die schnelle Induktion unspezifischer Krankheitssymptome.....	19
1.2	Signalwege zur Induktion zentralnervös kontrollierter Krankheitssymptome.....	20
1.2.1	Die besondere Bedeutung sensorischer zirkumventrikulärer Organe (sCVOs) bei der humoralen Signalübertragung.....	20
1.2.2	Alternative Signalübertragung	22
1.3	Potentielle Mediatoren zentralnervös kontrollierter Krankheitssymptome in der Peripherie.....	23
1.3.1	Zytokine	23
1.3.2	Prostaglandine	28
1.4	Potentielle Mediatoren zentralnervös kontrollierter Krankheitssymptome im Gehirn.	29
1.4.1	Aktivierung von Transkriptionsfaktoren.....	29
1.4.2	Zytokinbildung im Gehirn	31
1.4.3	Induzierbare Enzyme der Prostaglandinsynthese.....	31
1.5	Ziele und Fragestellungen.....	32
2	Material und Methoden.....	34
2.1	Geräte- und Materialliste I.....	34
2.2	In vivo Versuche.....	35
2.2.1	Geräte- und Materialliste II.....	35

2.2.2 Versuchstiere und Haltungsbedingungen.....	36
2.2.3 Operation und Operationsvorbereitung.....	36
2.2.3.1 Narkose und Prämedikation.....	36
2.2.3.2 Implantation des Radiotransmitters.....	36
2.2.3.3 Der Radiotransmitter.....	37
2.2.3.4 Erzeugen einer subkutanen Luftblase („airpouch“).....	38
2.2.3.5 Nachsorge.....	38
2.2.4 Verwendete Substanzen (TLR Agonisten).....	38
2.2.4.1 Imiquimod – R837.....	38
2.2.4.2 ODN 1668.....	40
2.2.5 Telemetrie.....	41
2.2.5.1 Aufzeichnung von Körpertemperatur, motorischer Aktivität, Futter- und Wasseraufnahme.....	41
2.2.5.2 Statistik und Auswertung der telemetrischen Daten.....	42
2.2.6 Organentnahme für PCR und Immunhistochemie.....	43
2.2.6.1 Geräte- und Materialliste III.....	43
2.2.6.2 Transkardiale Perfusion.....	43
2.2.6.3 Aufbereitung von Blut- und Lavageproben.....	44
2.3 Molekulare Untersuchungen.....	45
2.3.1 Plasmaprobenanalyse.....	45
2.3.1.1 Geräte- und Materialliste IV.....	45
2.3.1.2 Nachweismethoden für Zytokine (ELISA vs. Bioassay).....	46
2.3.1.3 IL-6 Bioassay.....	47
2.3.1.4 TNF α Bioassay.....	50
2.3.1.5 IFN γ ELISA.....	51
2.3.1.6 Statistik und Auswertung der Zytokindaten.....	52
2.3.2 Schneiden der Organe am Gefriermikrotom (Kryostat).....	52

2.3.3	Quantitative real-time Polymerase-Kettenreaktion (QRT-PCR).....	53
2.3.3.1	Geräte- und Materialliste V.....	53
2.3.3.2	Grundlagen.....	54
2.3.3.3	Versuchsprotokoll und Auswertung der PCR Daten.....	57
2.3.4	Immunhistochemie.....	61
2.3.4.1	Geräte- und Materialliste VI.....	61
2.3.4.2	Grundlagen.....	62
2.3.4.3	Versuchsprotokoll und Auswertung der Immunhistologischen Daten.....	64
3	Ergebnisse.....	67
3.1	Lokale und systemische Stimulation mit dem TLR 7 Agonisten Imiquimod.....	67
3.1.1	Telemetrische Daten.....	67
3.1.1.1	Körpertemperatur.....	68
3.1.1.2	Motorische Aktivität.....	70
3.1.1.3	Futter- und Wasseraufnahme.....	71
3.1.1.4	Körpergewicht.....	73
3.1.2	Molekulare Untersuchungen.....	75
3.1.2.1	Expressionsmuster von Interferonen in Leber und Milz auf mRNA-Ebene mittels RT-PCR.....	75
3.1.2.2	Zytokin Gehalt in Plasma- und Lavageproben.....	79
3.1.2.3	Expressionsmuster relevanter inflammatorischer Signalmoleküle im Hypothalamus auf mRNA-Ebene mittels RT-PCR.....	82
3.1.2.4	Expressionsmuster relevanter inflammatorischer Transkriptionsfaktoren auf Proteinebene mittels Immunhistochemie.....	88
3.2	Lokale und systemische Stimulation mit dem TLR 9 Agonisten ODN 1668.....	95
3.2.1	Telemetrische Daten.....	95
3.2.1.1	Körpertemperatur.....	96
3.2.1.2	Motorische Aktivität.....	99

3.2.1.3	Futter- und Wasseraufnahme.....	100
3.2.1.4	Körpergewicht.....	103
3.2.2	Molekulare Untersuchungen.....	103
3.2.2.1	Expressionsmuster von Interferonen in Leber und Milz auf mRNA-Ebene mittels RT-PCR.....	103
3.2.2.2	Zytokin Gehalt in Plasma- und Lavageproben.....	106
3.2.2.3	Expressionsmuster relevanter inflammatorischer Signalmoleküle im Hypothalamus auf mRNA-Ebene mittels RT-PCR.....	108
3.2.2.4	Expressionsmuster relevanter inflammatorischer Transkriptionsfaktoren auf Proteinebene mittels Immunhistochemie.....	113
3.3	Zusammenfassende Betrachtung der endosomalen TLR 7 und 9 Agonisten und ihrer Wirkung.....	118
4	Diskussion.....	119
4.1	ZentralNervös kontrollierte Krankheitssymptome nach lokaler (SC) oder systemischer (IP) Stimulation mit endosomalen TLR Agonisten.....	119
4.2	Periphere Zytokininduktion nach lokaler (SC) oder systemischer (IP) Stimulation mit endosomalen TLR Agonisten.....	122
4.3	Effekte endosomaler TLR Agonisten auf das Gehirn (CVOs / Hypothalamus)....	124
4.3.1	Ein zusätzlicher, alternativer Signalweg nach lokaler (SC) Stimulation mit TLR 7 und 9 Agonisten.....	127
4.4	Therapeutisches Potential von endosomalen TLR Agonisten.....	129
5	Zusammenfassung.....	130
6	Summary.....	132
7	Literaturverzeichnis.....	134
8	Anhang.....	155
8.1	Danksagung.....	155
8.2	Erklärung.....	155