

I. EINLEITUNG	8
1. Lokale und systemische Entzündungsreaktionen.....	8
2. Akute-Phase-Reaktion	11
2.1. Zentralnervös gesteuerte Akute-Phase-Reaktion	13
2.1.1. „Sickness Behavior“	13
2.1.2. Fieber	14
2.1.3. Biologischer Nutzen	16
II. LITERATURÜBERSICHT	18
1. Thermoregulation.....	18
1.1. Regelkreis	19
1.1.1. Kalt- und Warmsensoren	20
1.1.2. Effektororgane	23
1.1.2.1. Wärmeproduktion / Wärmekonservierungsmechanismen	23
1.1.2.2. Wärmeabgabemechanismen	24
1.1.3. Definition Fieber	24
2. Fiebermodelle.....	26
2.1. Nicht infektiös	27
2.2. Infektiös	27
2.2.1. LPS/Gram negativ	28
2.2.2. Andere exogene Pyrogene	29
3. Zytokine.....	30
3.1. Definition und Vorkommen	30
3.2. Zytokine als endogene Pyrogene	33
3.3. Inflammatorisch	34
3.3.1. IL-6	35
3.4. Antiinflammatorisch	36
4. Signaltransduktionswege auf zellulärer und molekularer Ebene	37
4.1. gp130 Rezeptorfamilie	37
4.1.1. STAT3	40
4.1.2. SOCS	42
4.2. NF- κ B	44

4.3. FOS	46
5. Potenzielle Zielgene	47
5.1. Zyklooxygenasen (COX-1, COX-2, COX-3).....	48
5.1.1. PGE ₂	51
5.1.2. PGE-Rezeptoren	54
5.2. NO-Synthasen (nNOS, eNOS, iNOS).....	56
5.3. Andere.....	58
6. Fieberentstehungshypothesen	58
6.1. Humorale Hypothese	58
6.1.1. Diffusion	59
6.1.2. Transport.....	59
6.1.3. Passage von Immunzellen als Informationsträger in das ZNS.....	60
6.1.4. Rezeptor vermittelt am Endothel.....	60
6.1.5. Sensorische CVOs	61
6.2. Nervale Hypothese	63
6.2.1. Der <i>Nervus vagus</i>	64
6.2.2. Andere.....	66
7. Hintergrund und Fragestellung der wissenschaftlichen Arbeit	67
III. MATERIAL UND METHODEN.....	69
1. Tiermodell	69
1.1. Material.....	69
1.1.1. Versuchstiere	69
1.1.2. Die subkutane Kammer	70
1.1.3. Der intraarterielle Katheter.....	70
1.1.4. Der Sender	71
1.1.5. Verwendete Substanzen.....	72
1.1.5.1. Für die Narkosen	72
1.1.5.2. Für die Versuche	73
1.1.5.2.1. Lipopolysaccharid (LPS).....	73
1.1.5.2.2. Diclofenac	73
1.1.5.2.3. NaCl	74
1.1.5.2.4. Ethanol	74

1.1.5.2.5. Solvent.....	74
1.1.5.2.6. Heparin.....	74
1.1.5.3. Für die Perfusion.....	74
1.1.5.4. Phosphatpuffer (PB 0,1M).....	75
1.1.5.5. Physiologische Kochsalzlösung (0,9 %).....	75
1.1.5.6. Paraformaldehyd-Lösung (PFA 4 %).....	75
1.1.5.7. Saccharoselösung (20 %).....	75
1.1.6. Vorbereitung der Injektionen.....	75
1.2. Methoden.....	76
1.2.1. Prämedikation und Narkose.....	76
1.2.2. Operationstechnik.....	76
1.2.2.1. Implantation eines Verweilkatheters in die <i>A. carotis</i>	77
1.2.2.2. Implantation der subkutanen Kammer.....	79
1.2.2.3. Implantation des Senders in die Bauchhöhle.....	79
1.2.3. Schematische Darstellung des Versuchsprotokolls.....	80
1.2.4. Stimulation der Versuchstiere.....	81
1.2.5. Biologisches Material.....	82
1.2.5.1. Blut/Plasma.....	82
1.2.5.2. Lavage.....	82
1.2.5.3. Gehirne.....	83
1.2.5.3.1. Gehirnentnahme für die Immunhistologie (Free Floating).....	83
1.2.5.3.2. Gehirnentnahme für die Immunfluoreszenz.....	84
1.2.5.3.3. Gehirnentnahme für die <i>in situ</i> Hybridisierung.....	84
2. Telemetrie.....	85
2.1. Material.....	85
2.2. Methoden.....	85
2.2.1. Versuchsdurchführung.....	85
2.2.1.1. Schematische Darstellung des Versuchsprotokolls.....	86
3. Interleukin-6 Bioassay.....	86
3.1. Material.....	87
3.1.1. Verwendete Substanzen.....	87
3.1.2. B9 Zelllinie.....	87
3.1.3. Vorbereitung.....	88
3.2. Methoden.....	88
3.2.1. Durchführung des Assays.....	88

4. Prostaglandin E₂ ELISA	90
4.1. Material	91
4.1.1. Verwendete Substanzen	91
4.1.2. Lavageproben	91
4.1.3. Vorbereitung	91
4.2. Methoden	92
4.2.1. Versuchsablauf/Auswertung	92
5. Immunhistochemie (Free Floating).....	93
5.1. Material	93
5.1.1. Gewebe	93
5.1.2. Antikörper	93
5.1.2.1. Primäre Antikörper	93
5.1.2.2. Sekundärer Antikörper	96
5.1.2.3. Amplifizierungsmethoden	96
5.1.2.4. DAB-Detektionssystem nach Amplifizierung	96
5.1.3. Kernfarbstoff	97
5.1.4. Verbrauchsmaterialien	97
5.1.5. Mikroskop	97
5.2. Methoden	98
5.2.1. Herstellung der Gefrierschnitte	98
5.2.2. Versuchsprotokoll	99
5.2.3. Mikroskopie	100
5.2.4. Quantifizierung der STAT3-positiven Zellen	100
6. Immunfluoreszenz für Doppelmarkierungen	101
6.1. Material	101
6.1.1. Gewebe	101
6.1.2. Antikörper	101
6.1.2.1. Primäre Antikörper	101
6.1.2.2. Sekundäre Antikörper	101
6.1.2.3. Detektionssystem	102
6.1.3. Fluoreszenz-Kernfarbstoff	102
6.1.4. Verbrauchsmaterialien	103
6.1.5. Mikroskop	103

6.2. Methode	104
6.2.1. Herstellung der Gefrierschnitte	104
6.2.2. Arbeitsprotokoll	105
6.2.3. Mikroskopie	106
6.2.4. Quantifizierung der Ergebnisse	107
7. Erstellung von „Brain maps“ des Meerschweinengehirns	107
7.1. Material	107
7.2. Methode	108
8. Enzymatischer Nachweis der NADPH-Diaphorase	109
8.1. Material	109
8.1.1. Gewebe	109
8.1.2. Verbrauchsmaterialien	109
8.2. Methode	110
8.2.1. Arbeitsprotokoll	111
8.2.2. Mikroskopie	111
9. <i>In situ</i> Hybridisierung von COX-2 mRNA	111
9.1. Material	112
9.1.1. Gewebe	112
9.1.2. Verbrauchsmaterialien	112
9.1.2.1. Herstellung der Sonden	112
9.2. Methode	113
9.2.1. Arbeitsprotokoll	114
10. Auswertung und Statistik	114
10.1. Daten zur Körperkerntemperatur	114
10.2. Daten zu den IL-6 Bioassays	116
10.3. Daten zum PGE ₂ Immunoassay	117
10.4. Daten zu der STAT3 Signal-Zählung	118
IV. ERGEBNISSE	119
1. Nukleäre Translokation des Transkriptionsfaktors STAT3 im Meerschweinengehirn während systemischer oder lokaler Inflammation	119

1.1.	Fieber und zirkulierendes IL-6 nach systemischer oder lokaler Gabe von LPS	119
1.2.	Nukleäre STAT3-Translokation in Gehirnzellen nach systemischer oder lokaler Gabe von LPS.....	126
1.2.1.	Verteilung der nukleären STAT3-Signale im Meerschweinchengehirn	128
1.2.2.	STAT3-Signalverteilung in den sensorischen CVOs und dem hypothalamischen <i>Nucleus supraopticus</i> (SON).....	133
1.2.2.1.	Qualitative Analyse.....	133
1.2.2.2.	Quantitative Analyse.....	138
1.2.2.3.	Zusammenfassung.....	139
2.	Charakterisierung des zellulären Phänotyps der potenziell durch IL-6 aktivierten Zellen	141
2.1.	vW-positive Endothelzellen und GFAP-positive Astrozyten	143
2.1.1.	Verteilung vW-positiver Endothelzellen und GFAP-positiver Astrozyten in den CVOs.....	146
2.2.	NADPH-Diaphorase-positive Zellen.....	151
3.	Die Rolle von Prostaglandinen bei der Fieberentstehung im Modell der lokalen Inflammation	152
3.1.	Induktion von COX-2 im Gehirn	152
3.2.	Dosis-abhängige Modulierung der lokal induzierten Fieberreaktion durch Diclofenac.....	157
3.2.1.	Contralaterale Gabe von Diclofenac	164
3.3.	Lokale Bildung von PGE ₂	167
4.	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	169
V.	DISKUSSION	171
1.	Humorale Hypothese zur Fieberentstehung	171
1.1.	Rolle von IL-6	171
1.2.	Rolle der zirkumventrikulären Organe (CVOs)	172
1.3.	Rolle der einzelnen aktivierten Zellfraktionen.....	177
1.3.1.	Astrozyten.....	177
1.3.2.	Endothelzellen	178
1.3.3.	Andere Zell-Phänotypen.....	181

2. Grenzen der Aussagekraft der Studie	182
2.1. Problem der Detektion.....	182
2.1.1. SOCS als Alternative zum Aktivierungsmarker STAT3	183
2.2. Problem der physiologischen Bedeutung	184
2.2.1. Pharmakologische Blockade der IL-6 Wirkung.....	184
3. Nervale Hypothese zur Fieberentstehung	185
3.1. Nachweis und Bedeutung von COX-2 und PGE ₂	185
3.2. Nachweis und Bedeutung von peripheren Thermorezeptoren	189
4. Mechanismen des Zusammenspiels humoraler und neuronaler Signale	191
4.1. Abhängigkeit vom Ausmaß des Entzündungsreizes	193
4.2. Bedeutung bei akuten lokalen Verletzungen.....	194
5. Schlussfolgerung und Zukunftsperspektiven.....	195
VI. ZUSAMMENFASSUNG.....	196
VII. SUMMARY.....	198
VIII. ABKÜRZUNGEN.....	200
IX. LITERATURVERZEICHNIS	203
X. ANHANG	247
1. Publikationen	247
1.1. Originalarbeiten in Fachzeitschriften	247
1.2. Veröffentlichte Abstrakts	247
1.3. Buchkapitel	248
2. Danksagung.....	249
3. Erklärung.....	250