

Klaus Meisinger
Dr. med.

Polymorphismus des Merozoiten-Oberflächenproteins MSP2 von *Plasmodium falciparum* in einem Dorf der nigerianischen Savanne

Geboren am 14.12.1972 in Erbach
Reifeprüfung am 26.05.1992 in Michelstadt
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1993/94 bis SS 2000
Physikum am 24.08.1995 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Bad Mergentheim
Staatsexamen am 17.10.2000 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Hygiene
Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Andreas Ruppel

Die Malaria gilt heute mit 300-500 Mio. Erkrankungen jährlich als die wichtigste parasitische Tropenkrankheit. Da sich in den letzten Jahrzehnten sowohl gegen medikamentöse Therapie resistente Erreger als auch gegen Insektizide resistente *Anopheles*-Mücken stark verbreiteten, kommt der Impstoffentwicklung gegen *Plasmodium falciparum* immer größere Bedeutung zu. Dabei spielen vor allem Oberflächenantigene der Sporoziten und auch immer mehr der Merozoiten eine Hauptrolle, so z.B. das Merozoiten-Oberflächenprotein 2 (Merozoite Surface Protein 2, MSP2). Dieses Antigen ist sehr polymorph, so daß es oft als "single-locus-marker" für epidemiologische Untersuchungen von *P. falciparum*-Infektionen eingesetzt wird. Alle bisher gefundenen Allele von *mSP2* konnten aufgrund von Sequenz- oder RFLP-Analysen zwei Familien, FC27 und 3D7, zugeordnet werden, die sich in Art und Häufigkeit bestimmter repetitiver Basensequenzen unterscheiden.

In dieser Arbeit wurden 160 Blutproben von Personen aus einem malariaendemischen Dorf in der nigerianischen Savanne im Alter von 5-70 Jahren untersucht. Dabei wurden die Prävalenz, die Multiplizität der Infektionen und der genetische Polymorphismus von *P. falciparum*-Infektionen anhand von *mSP2* bestimmt.

Die aus den Blutproben isolierte DNA wurde mit Hilfe von *mSP2*-spezifischen Primern in einer 2-stufigen Polymerase-Kettenreaktion amplifiziert. Durch eine anschließende Analyse mit verschiedenen Restriktionsendonukleasen konnten die gefundenen Genotypen durch spezifische Fragmentmuster in der Gelelektrophorese in die beiden Allelfamilien FC27 und 3D7 eingeteilt und weiter charakterisiert werden (RFLP).

Von den 160 untersuchten Blutproben waren 144 Blutproben positiv, das bedeutet eine Prävalenz von 90%. 110 Isolate (68,8%) waren mit mindestens 2 genotypisch verschiedenen Infektionen infiziert. Bei drei Blutproben (1,9%) konnte eine siebenfache Infektion festgestellt werden. Insgesamt wurden 401 *P. falciparum*-Infektionen gefunden, wobei eine infizierte Person im Durchschnitt mit 2,8 verschiedenen *mSP2*-Genotypen infiziert war.

Alle gefundenen Infektionen konnten den beiden bisher beschriebenen *mSP2*-Familien 3D7 und FC27 zugeordnet werden. 221 (55,2%) Genotypen gehörten der 3D7-Allelfamilie an, 180 (44,8%) entfielen auf die FC27-Familie. Sowohl bei der Gesamtzahl der Infektionen, als auch in den einzelnen Familien fand man nach

einem initialen Anstieg in der Altersgruppe von 11-15 Jahren eine altersabhängige Abnahme der durchschnittlichen Infektionszahl pro infizierter Person.

In der FC27-Familie konnten aufgrund der Fragmentgröße bei der Restriktionsanalyse mit *HinfI* 6 Allele unterschieden werden (Wos10, Wos3/Col5, Wos12, K1, FC27, Wos6). Am häufigsten wurde dabei Wos3/Col5 (27,2%) gefunden. 31 Isolate mit jeweils nur einer Infektion wurden mit weiteren Restriktionsendonukleasen oder durch genauere gelelektrophoretische Auftragung näher analysiert. Dabei fand man unter 10-Einfach-Infektionen des FC27-Typs drei, die sich in keine der bisher beschriebenen Unterfamilien einordnen ließen. In der 3D7-Familie wurde mit weiteren Restriktionsendonukleasen eine nähere Charakterisierung vorgenommen. Hier fanden sich Allele der bekannten Unterfamilien der KF1916-, MAD71-, 311- sowie IC1-artigen. 5 der 21 untersuchten Allele ließen sich in eine neue, bisher noch nicht beschriebene Unterfamilie (AGU210) einordnen, da sie alle eine spezifische Verlängerung eines Genfragmentes zeigten. Von den gefundenen 31 Genotypen der Einfach-Infektionen waren nur 2 in der 3D7-Familie als doppelt und 1 Allel in der FC27 Familie als dreifach identifiziert worden.

Die Arbeit zeigt für die nigerianische Savanne eine hohe Multiplizität, Prävalenz und Diversität von *P. falciparum*-Infektionen. Diese Ergebnisse konnten in Studien aus anderen Regionen Afrikas, z. B. aus Tansania und aus dem Senegal bestätigt werden.