

Barbara Stephan

Dr. med.

Parasitäre Komponenten als Stimuli des angeborenen Immunsystems im murinen Zellsystem

Geboren am 03. 04. 1979 in Bad Hersfeld

Staatsexamen am 13. 06.2005 an der Philipps-Universität Marburg

Promotionsfach: Hygiene

Doktorvater: Prof. Dr. med. Klaus Heeg

Toll-like Rezeptoren spielen eine zentrale Rolle bei der Aktivierung des angeborenen Immunsystems. Diese Rezeptoren erkennen spezifisch eine Vielzahl konservierter mikrobieller Muster (sog. PAMPs), die zu einem großen Teil bakteriellen Ursprungs sind. Inzwischen sind auch einige virale und parasitäre Bestandteile, Pilz-Komponenten und sogar synthetische Stoffe als TLR-Liganden beschrieben worden.

Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen konnten GPI-Anker von *Trypanosoma cruzi*-Parasiten als TLR-2-Liganden ermitteln. Um zu untersuchen, ob auch Komponenten anderer Parasiten die frühe Immunantwort in murinen Zellen initiieren und eventuell als TLR-Liganden fungieren, wurden in dieser Arbeit aus *Leishmania major*- und *Toxoplasma gondii*-Parasiten verschiedene Komponenten isoliert und deren Fähigkeit, die TNF- α - und NO-Sekretion in RAW 264.7-Makrophagen zu induzieren, getestet.

Es zeigte sich, dass insbesondere die durch Ultraschall fragmentierte *Leishmania major*-DNA zu einer starken TNF- α - und NO-Sekretion in RAW-Makrophagen führte. Weiterhin zeigten sich die GPI-verankerten Proteine und das Proteinlysate der *Leishmania major*-Parasiten als Inhibitoren der TNF- α -Sekretion. Besonders eindrucksvoll war dieser Effekt in Kostimulationsversuchen mit CpG-ODN 1668, einem bekannten Ligand des TLR-9. Hier wurde die durch das Oligonukleotid induzierte TNF- α -Sekretion sowohl durch die GPI-verankerten Proteine der *Leishmania major*-Parasiten als auch durch das *Leishmania major*-Proteinlysate deutlich supprimiert. Für die entsprechenden *Toxoplasma gondii*-Komponenten konnte dieser Effekt nicht gezeigt werden. Mittels CpG-ODN 1668-FITC, einem fluoreszenzmarkierten Oligonukleotid, konnte gezeigt werden, dass durch die beiden inhibitorisch wirkenden *Leishmania major*-Komponenten die endozytäre Aufnahme des

Oligonukleotids gehemmt wurde. Interessanterweise wurde die durch R-848, einem Ligand der ebenfalls endosomal gelegenen TLR-7 und TLR-8 induzierte Zytokinsekretion nur durch die GPI-verankerten Proteine der *Leishmania major*-Parasiten inhibiert, nicht aber durch das Proteinlysat.

Bei den entsprechenden Komponenten der *Toxoplasma gondii*-Parasiten konnte keiner der untersuchten Bestandteile als induzierender oder inhibierender Faktor auf die Zytokinsynthese der RAW 264.7-Makrophagen identifiziert werden.

Die Stimulation mit den jeweiligen Präparationen der beiden Parasiten auf HEK^{TLR-2}-Zellen erbrachte keine nennenswerte Zytokinsekretion dieser Zellen. Dies könnte damit zusammenhängen, dass der TLR-2 unter anderem Homo- und Heterodimere bildet und teilweise auch Kofaktoren für die Erkennung der Liganden benötigt. Die gezeigten Ergebnisse lassen vermuten, dass die Herabsetzung der TNF- α -Sekretion der Makrophagen ein Weg der *Leishmania major*-Parasiten ist, während der frühen Infektion das Immunsystem des Wirts zu ihren Gunsten zu manipulieren. Denn durch den Ausfall der frühen TNF- α -Sekretion gewinnt der Parasit wiederum Zeit, sich zu vermehren. Die Hemmung der Aufnahme der DNA, dem offensichtlich potentesten Induktor der TNF- α -Produktion aller hier getesteten *Leishmania major*-Bestandteile, wäre dabei eine effiziente evolutionäre Anpassung dieser Parasiten.