

Eva-Vanessa Mrosek  
Dr. med.

## **Quantifizierung antigenspezifischer CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten bei HIV und Plasmodium falciparum Infektion in Nouna, Burkina Faso**

Geboren am 02.10.1982 in Heidelberg  
Staatsexamen am 16.06.2009 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Hygiene  
Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Hans-Georg Kräusslich

HIV und Malaria gehören zu den medizinischen Herausforderungen des 21. Jahrhunderts. Südlich der Sahara existieren diese beiden Infektionskrankheiten in großen Teilen der Bevölkerung nebeneinander und immer mehr Studien lassen auf komplexe immunologische Interaktionen der Krankheitserreger schließen.

Die genaue Immunpathogenese beider Krankheiten ist bis heute Gegenstand intensiver Forschung und ihr Verständnis ein entscheidender Schritt bei der Entwicklung potenter Impfstoffe.

Eine Möglichkeit des funktionellen Immunmonitorings ist die Detektion der Zytokinproduktion antigenspezifischer T-Zellen. Dies verlangt jedoch, aufgrund ihrer sehr geringen Frequenz für ein bestimmtes Antigen, eine hohe Sensitivität der Methode.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde ein Standardprotokoll zur Messung intrazellulärer Zytokine (IFN- $\gamma$ , IL-2 und TNF- $\alpha$ ), nach Kurzzeitantigenstimulation im heparinisierten Vollblut, etabliert. Die Anwendbarkeit zur Messung PfMSP-1- und HIV-1-spezifischer CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten wurde im Rahmen einer Feldstudie in Nouna, Burkina Faso, überprüft. Als Antigene wurden das merozoite surface protein-1 (PfMSP-1), einer der führenden Kandidaten erythrozytärer Impfstoffe gegen den Malaria Parasiten Plasmodium falciparum, sowie Kombinationen der HIV-1-Proteine p24, Tat und Rev eingesetzt.

Es wird diskutiert, ob die HIV-induzierte Dysfunktion der spezifischen zellulären Immunität die abgeschwächten Immunantworten gegenüber P. falciparum bedingt und zu einer erhöhten Zahl klinischer Malariainfektionen mit schweren Verläufen wie zerebraler Malaria oder Anämie führt. Eine mögliche immunologische Erklärung ist die Dysbalance zwischen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen durch die Reduktion von PfMSP-1-spezifischen CD4<sup>+</sup> Lymphozyten in HIV-1-positiven Patienten. In der Arbeit konnte eine geringere Frequenz PfMSP-1-spezifischer CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten in HIV-1-positiven Probanden im Vergleich zu

der gesunden Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Diese Reduktion war jedoch aufgrund der geringen Fallzahl nicht signifikant.

Des Weiteren war sechs Monate nach der Malariasaison kein Zusammenhang zwischen einem signifikanten Prozentsatz PfMSP-1-spezifischer CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten und dem Fortschreiten der HIV-Infektion, gekennzeichnet durch eine geringe CD4-Zellzahl bzw. eine hohe Viruslast, nachweisbar.

In neun von 24 HIV-1-infizierten Patienten wurde eine signifikante Zytokinproduktion der HIV-1-spezifischen CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten nachgewiesen. Es bestand jedoch keine signifikante Korrelation mit den immunologischen Verlaufsparemtern der Krankheit wie Viruslast und CD4-Zellzahl oder den Reifungsstadien der CD4<sup>+</sup> Lymphozyten. Als weitere Determinante für die Detektion von HIV-1-spezifischen CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten wurde die Übereinstimmung der p24-Sequenz der HIV-positiven Patienten mit der p24-Sequenz des verwendeten Antigens untersucht. Es gab keine Korrelation zwischen einer hohen Übereinstimmung der Aminosäuresequenz des Patienten mit der verwendeten Capsidsequenz p24<sub>NL4-3</sub> und einer signifikanten IFN- $\gamma$ -Produktion der HIV-1-spezifischen CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten. Die Studienergebnisse sind durch die verschiedenen verwendeten Antigenkombinationen und die geringe Fallzahl nur eingeschränkt aussagekräftig.

Interessanterweise konnte bei vier der sechzehn HIV-1-exponierten, seronegativen Probanden eine singuläre TNF- $\alpha$ -Produktion durch HIV-1 spezifische CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten gemessen werden. Zwar haben bereits mehrere Studien HIV-1-spezifische CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten in exponierten, seronegativen Patienten nachgewiesen, allerdings lagen bisher keine Daten über eine TNF- $\alpha$ -Produktion in diesem Patientenkollektiv vor.

Die Daten dieser Arbeit belegen die Durchführbarkeit intrazellulärer Zytokinmessungen in HIV-1- und PfMSP-1-spezifischen CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten im Rahmen der Studienbedingungen in Nouna. Sie liefern die Grundlage für die weitere Studienplanung zur Untersuchung der immunologischen Interaktion beider Infektionskrankheiten sowie der Einflussfaktoren auf die Frequenz HIV-1- und PfMSP-1-spezifischer CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten.