

Mailin Waldecker
Dr. med.

Protection from Malaria by Hemoglobin S and C – A Comparative Study of Cell Morphology

Fach: Infektiologie
Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Michael Lanzer

In dieser Studie wurden die morphologische Veränderung von *P. falciparum*-infizierten Erythrozyten anhand von 3D modellierten Mikroskopaufnahmen erfasst. Im Verlauf eines Lebenszyklusses des Parasiten wurden so Formveränderungen von Erythrozyten mit verschiedenen Hämoglobinvarianten evaluiert. Das Ziel war es, ein besseres Verständnis der protektiven Eigenschaften dieser Hämoglobinopathien zu erlangen.

Während der Blutphase verändert der Parasit seine Wirtszelle in enormem Maße. Eine dadurch erhöhte Salz-Permeabilität der Wirtszellmembran bringt das osmotische Verhältnis des Erythrozyten aus dem Gleichgewicht. Dies hat ein massives Anschwellen zur Folge. Um ein frühzeitiges Platzen der Zelle zu verhindern, konnte in einem Modell gezeigt werden, dass der Parasit das osmotisch wirksame Hämoglobin der Wirtszelle deutlich über dem Maße abbaut, als er es für die Wiederverwendung der eigenen Proteinbiosynthese verwenden könnte. Dieses sogenannte „colloid-osmotic model“ wurde hinsichtlich seiner Übereinstimmung mit den experimentellen Daten für die Wildtyp Hämoglobinart HbA überprüft. Auf dieser Basis wurden auch die Hämoglobinmutationen S und C auf ihre morphologischen Veränderungen untersucht. Dabei ging es um die Frage, ob das Modell zeitabhängige, volumetrische Veränderungen der infizierten Erythrozyten voraussagen kann.

Für infizierte HbA-Erythrozyten waren die experimentellen Daten in guten Einklang mit dem Modell zu bringen. Was jedoch HbC und vor allem HbS betrifft, blieben die empirischen Daten hinsichtlich der Größenzunahme und Formänderung hinter den Erwartungen des Modells zurück und ein verspäteter Beginn der Veränderungen konnte beobachtet werden. Daraufhin wurde das Modell hinsichtlich einiger Parameter verändert, welche in vorangehenden Studien bei Hämoglobinvarianten als abweichend gezeigt wurden. Im Gegensatz zu HbAS konnte für HbAC dadurch eine Übereinstimmung des Modells mit den experimentellen Daten erzielt werden.

Ein persistierendes Volumen im Fall von HbAS deutet auf eine starke Vesikulierung der Erythrozytenmembran während des Lebenszyklusses des Parasiten hin. Der Beitrag zum Schutz gegen schwere Malaria im Falle der heterozygoten Sichelzellmutation wird hinsichtlich mehrerer Faktoren diskutiert: Hauptsächlich wird bei homozygoten Sichelzellen eine starke Dehydrierung festgestellt, die bis zu einem gewissen Maße auch bei heterozygoten HbAS Zellen vorliegt. Das

könnte ein Grund sein warum es zu einem weniger massiven Anschwellen der infizierten Erythrozyten kommt. Darüber hinaus führt diese Dehydrierung des Erythrozyten unabhängig von der Infektion zu einer schnelleren Aussortierung durch die Milz. Bei einer Malariainfektion führt dies zu einer per se Kontrolle der Parasitämie. Durch die hier erhobenen Daten wird diese Hypothese unterstützt und könnte als Grundlage für zukünftige Untersuchungen hinsichtlich des protektiven Effekts von HbAS dienen.

Vesikulierung, was ein Abschnüren solcher Membranteile bedeutet, welche (toxische) Abfallprodukte des Zellmetabolismus einschließen, ist bekannt als ein Selbstschutzmechanismus der Zelle. Wenn man nun bedenkt, dass Sichelzellen unter erhöhtem oxidativen Stress stehen und damit auch mehr schädliche Abfallprodukte produzieren, ist eine vermehrte Vesikulierung die logische Konsequenz. Die Beobachtung, dass HbAS Erythrozyten im Verlauf der Infektion deutlich an Oberfläche verlieren, entsprechen dieser Überlegung.

Mit dem Abbilden und Vermessen wurde eine neue Methode zum Erfassen morphologischer Parameter etabliert. Mittels konfokaler Laser-Scanning Mikroskopie wurden dünne Schichten eines angefärbten Erythrozyten in der z -Ebene aufgenommen. Zusammengefügt konnte dieser Bilddatensatz zu einem 3D Objekt modelliert werden. Durch die so erlangte Plastizität des Objektes waren keine weiteren Experimente von Nöten um die morphologischen Parameter zu erheben.

Diese neue Methode ist für zukünftige Untersuchungen nützlich. Im Hinblick auf anwendungsorientierte Forschung wäre es z.B. erstrebenswert, in vivo Bedingungen zu simulieren. Dazu könnte man den experimentellen Aufbau dynamischer gestalten, indem man die infizierten Erythrozyten mit Endothelzellen in Kontakt bringt. So wäre ein besseres Verständnis der morphologischen Veränderungen während der Adhärenz möglich. Bereits in Planung ist eine Beschichtung der Mikroskopieplatten mit CSA, dem Rezeptor des parasitären PfEMP1. Das intrauterin exprimierte CSA ist insofern bedeutungsvoll, da es für die schwangerschaftsassozierte Form der Malaria verantwortlich ist. Darüber hinaus könnte es als Modell dienen, um Hb-Varianten unter lebensnahen Bedingungen zu untersuchen.

Im Hinblick auf die zum Teil überraschenden Resultate hinsichtlich der abweichenden Entwicklung von HbAS- und HbAC-Erythrozyten, wäre es interessant, das colloid-osmotische Modell auf homozygote Sichelzellen anzuwenden und zu sehen, ob sich der festgestellte Trend noch verstärkt und somit die hier formulierte klinische Hypothese unterstützt. In jedem Fall aber würde es weiteren Aufschluss über die protektiven Eigenschaften von auf dem Feld der Hämoglobinopathien im Zusammenhang mit deren Protektion vor Malaria geben.