

Joshua Hans-Peter Leutiger
Dr. med.

Understanding *Plasmodium* Oocyst Biology

Fach/Einrichtung: Hygiene

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Friedrich Frischknecht

Malaria ist nach wie vor eine der tödlichsten Infektionskrankheiten in Afrika. Trotz großer Anstrengungen zur Eindämmung der Krankheit und nach Jahren des epidemiologischen Rückgangs erfuhr die Zahl der Infektionen und Todesfälle aufgrund der Coronavirus-Krankheit-2019 Pandemie in letzter Zeit wieder einen Anstieg. Der Erreger der Malaria ist *Plasmodium*, ein einzelliger Parasit, der durch einen sowohl im Menschen als auch in der Stechmücke stattfindenden, komplexen Lebenszyklus charakterisiert ist. Der Fokus der vorliegenden Dissertation lag hauptsächlich auf den Entwicklungsstadien im Moskito-Vektor. Dies ist ein Prozess, der von Parasiten in sexuellen Stadien zu infektiösen Sporozoiten führt, welche wiederum dem Ziel der Übertragung auf den nächsten Wirt dienen. Im Lebenszyklus nimmt die Entwicklung der Oozysten einen gesonderten Stellenwert ein, da sie das längste Entwicklungsstadium und die einzige Phase der extrazellulären Reproduktion des Parasiten darstellt. Im Verlauf von 10 bis 14 Tagen werden in den Oozysten unter der Basallamina des Mitteldarms der Stechmücke Tausende von Sporozoiten gebildet, die schließlich in die Hämolymphe freigesetzt werden. Dieses Entwicklungsstadium ist jedoch noch nicht ausreichend erforscht und die Mechanismen der Freisetzung aus der Oozyste bleiben weitgehend unklar.

In dieser Studie konnte ein bestehendes Protokoll zur Isolierung von Oozysten aus dem Mitteldarm der Stechmücke im Labor etabliert und optimiert werden, welches eine selektive Untersuchung dieses Parasitenstadiums ermöglicht. Es wurde beobachtet, dass sich die Oozysten während eines Deformationstests in mikrofluidischen Kanälen durch sehr schmale Engstellen drücken konnten. Die gezeigten elastischen, bis hin zu flüssigkeitsähnlichen, physikalischen Eigenschaften wurden daraufhin durch Eindrücken der Oozystenkapsel mit einem Nanoindenter untersucht. Dies ergab überraschend weiche Elastizitätsmodule, welche mit Hepatozyten vergleichbar sind.

Allerdings konnten Zellbestandteile aus dem Mitteldarmgewebe der Mücke nicht vollständig aus der Probe entfernt werden, was einen hohen Durchsatz der Anwendung des mikrofluidischen Deformationstests verhinderte. Folglich konnte das Verhalten bei Verformung nicht quantitativ beschrieben werden und eine zuverlässige Identifizierung der Oozysten als solche war nicht immer realisierbar. Perspektivisch gestaltet sich die größte Herausforderung darin, die Probe vollständig zu reinigen, um so eine weitere Charakterisierung dieses Parasitenstadiums mit Hilfe von Mikropipettenaspiration und mikrofluidischen Technologien wie Echtzeit-Verformungszytometrie zu ermöglichen.

Die Identifizierung der Oozysten als sehr weiche Zellen untermauert die Beobachtung der Sporosomenbildung während des Sporozoitenaustritts aus der Oozyste. Die genauen Mechanismen der Oozystenruptur sind jedoch nicht vollständig geklärt. Die Untersuchung der Veränderung der biophysikalischen Eigenschaften während der Oozystenentwicklung und die genauere Charakterisierung der Serin-Repeat-Antigen 5 Knockout-Parasitenlinie könnten weitere Erkenntnisse bringen. Um in diesem Zusammenhang einen Verlust größerer Oozysten während der Aufreinigung zu vermeiden, müsste das Isolierungsprotokoll weiter optimiert werden.

Letztendlich könnte die Charakterisierung der biophysikalischen Eigenschaften des Oozystenstadiums dazu beitragen, ein minimalistisches, synthetisches Oozystenmodell zu entwickeln, welches aus Mikrokapseln besteht, die aus extrazellulären Matrixproteinen hergestellt werden. Dieses Modell könnte die Beobachtung der Sporogonie ermöglichen und damit zur Entschlüsselung des Mechanismus der Oozystenruptur beitragen.