

**MANCHE
MOGEN'S**

HART

MANCHE MÖGEN'S HART

DIE MOLEKULARE ACHILLESFERSE DES MALARIAERREGERS

FRIEDRICH FRISCHKNECHT & CARMEN RUIZ DE ALMODÓVAR

Auf seinem langen Weg durch den menschlichen Körper scheint der Erreger der Malaria den Kontakt mit weichen Oberflächen zu meiden – lieber sind ihm härtere Strukturen. Diese Erkenntnis der Grundlagenforschung am Heidelberger Zentrum für Infektiologie eröffnet neue Chancen, die schwere Infektionskrankheit zu verstehen – ein weiterer Erfolg in der langen Tradition der Malariaforschung an der Universität Heidelberg.

S

Schleimige Würmer, bösartige Insekten, schwere Krankheiten – die Assoziationen, die der Begriff „Parasit“ üblicherweise erweckt, sind wenig schmeichelhaft. Biologisch betrachtet ist der Parasitismus eine der erfolgreichsten Lebensformen, was kaum verwundert, weiß man von den vielen Kunststücken, die Parasiten meisterhaft beherrschen und nutzen, um ihre Fortpflanzung und Verbreitung zu sichern. Zu den am besten erforschten Parasiten zählt der Erreger der Malaria, eine der weltweit gefährlichsten Infektionskrankheiten. Jährlich erkranken über 200 Millionen Menschen daran, mehr als 500.000 von ihnen sterben, zumeist kleine Kinder.

Früher war die Erkrankung auch hierzulande verbreitet; bis in die 1970er-Jahre hinein gab es sie noch in Westeuropa und den USA, heute aber kommt die Malaria ausschließlich in den Tropen vor. Eine Tropenkrankheit im eigentlichen Sinne ist die Malaria jedoch nicht, sondern eine Krankheit der Armut. Das zeigt das Beispiel

Costa Rica – ein tropisches Land, in dem es im Unterschied zu seinem nördlichen Nachbarland Nicaragua so gut wie keine Malaria mehr gibt: Denn Costa Rica kann es sich leisten, Autos und Lastwagen, die über die Grenze fahren, mit Insektiziden zu besprühen.

Die im ausgehenden 19. Jahrhundert gemachte Entdeckung, dass die Parasiten von Mücken übertragen werden, war entscheidend dafür, wirksame Strategien gegen die Krankheit zu entwickeln. Um die Malaria jedoch noch weiter zurückzudrängen, sind neue Medikamente sowie effektive Impfstoffe erforderlich. Dazu müssen wir besser verstehen, wie der Parasit mit seinen beiden „Wirten“ – der Mücke und dem Menschen – interagiert. Ein Schwerpunkt unserer Arbeiten im Zentrum für Infektiologie der Universität Heidelberg sind die verschiedenen Bewegungsformen des Parasiten. Insbesondere interessieren wir uns dafür,

wie der Parasit auf seinem komplizierten Lebensweg mit Strukturen des Mücken- und Menschenkörpers Kontakt aufnimmt – und was man aus diesen Erkenntnissen lernen kann, um ihn aufzuhalten.

Porträt eines Erregers

Der Malariaerreger – ein einzelliger Parasit mit dem wissenschaftlichen Namen Plasmodium – wird von der Stechmücke Anopheles auf den Menschen übertragen. Im menschlichen Körper durchläuft der Erreger einen komplexen Lebenszyklus, zu dem ihm sehr unterschiedliche Bewegungsformen verhelfen: Er wandert auf gewundenen Pfaden durch die Haut, treibt im Blut, bohrt sich in die Leber und dringt in rote Blutkörperchen ein. Ein besseres Verständnis dieser Bewegungsformen – und der Moleküle, die dem Krankheitserreger zu einem erfolgreichen Abschluss seines Lebenszyklus verhelfen – könnte gänzlich neue Wege im Kampf gegen die Malaria eröffnen.

Die molekularbiologische Forschung hat bestimmte Proteine auf der Oberfläche der Parasiten erkannt, mit denen er mit seiner Umgebung in Kontakt tritt. Nicht nur biochemische, auch physikalische Variationen dieser Oberflächenproteine spielen bei der Interaktion eine Rolle: Mühelos scheint sich der Parasit an die unterschiedlichsten sowohl weichen als auch harten Strukturen anpassen zu können, denen er auf seinem Weg durch Mücke und Mensch begegnet. Wissenschaftler haben den sich ständig verändernden parasitären Formen verwirrende Namen gegeben, auf die wir in diesem Beitrag weitgehend verzichten möchten. Stattdessen wollen wir die Wege nachvollziehen, die der Parasit durch den Körper von Mücke und Mensch nimmt, und seine „Achillesferse“ aufzeigen.

Beim Stich der Mücke gelangen die Parasiten in das Unterhautgewebe des Menschen. Dort bewegen sie sich sehr schnell weiter fort und wandern in Lymph- und Blutgefä-

**„Die Malaria ist eine
der weltweit gefährlichsten
Infektionskrankheiten.
Jährlich erkranken über 200
Millionen Menschen
daran, mehr als 500.000
von ihnen sterben –
zumeist kleine Kinder.“**

ße ein. Die Parasiten, die in ein Lymphgefäß geraten, haben Pech: Sie werden von Immunzellen zerstört, die in den Lymphknoten auf gefährliche Eindringlinge warten. Nur diejenigen Parasiten, denen es gelungen ist, in ein Blutgefäß einzudringen, haben eine Chance, mit dem Blutstrom zu ihrem eigentlichen Ziel, der Leber, zu gelangen. Dort angekommen, dringen sie in die Leberzellen ein, vermehren sich in ihnen und gelangen, in kleine Bläschen verpackt, erneut ins Blut, wo sie nun die roten Blutkörperchen befallen. Während sich die Parasiten rasant vermehren, versteifen die ansonsten sehr elastischen und flexiblen Blutkörperchen. Diese Veränderung wäre eigentlich ein Grund, von der Milz umgehend aussortiert zu werden, was das Ende des Lebensweges der Parasiten bedeuten

Sonderforschungsbereich 1129

Der Sonderforschungsbereich „Integrative Analyse der Replikation und Ausbreitung pathogener Erreger“ (SFB 1129) untersucht die vielfältigen Wechselwirkungen zwischen Erreger- und Wirtsorganismen, die zur Vermehrung und Ausbreitung oder aber zur Hemmung einer Infektion führen. Dabei geht es um die Berücksichtigung der unterschiedlichen Komplexitätsebenen und Größenordnungen, die für den Infektionsvorgang relevant sind. Langfristig sollen in der Zusammenführung unterschiedlicher Disziplinen neue Methoden zur Krankheitskontrolle entwickelt werden. Koordiniert wird der Sonderforschungsbereich an der Medizinischen Fakultät Heidelberg. Neben Forscher:innen aus der Infektiologie sind Wissenschaftler:innen der Bereiche Physik, Chemie, Biowissenschaften und Ingenieurwissenschaften der Universität sowie des European Molecular Biology Laboratory (EMBL), des Max-Planck-Instituts für medizinische Forschung und des Deutschen Krebsforschungszentrums (DKFZ) beteiligt. Sprecher des SFB ist Prof. Dr. Hans-Georg Kräusslich, Dekan der Medizinischen Fakultät Heidelberg und Sprecher des Zentrums für Infektiologie.

www.sfb1129.de

„Über die Proteinbindungspartner der Wirte wissen wir im Unterschied zu den Proteinen der Parasiten bislang nur wenig.“

würde. Doch auch das können die Erreger mit einem Trick verhindern: Die ins Innere der Blutkörperchen gelangten Parasiten positionieren eigene Proteine auf der Oberfläche der roten Blutzellen. Das führt dazu, dass die roten Blutkörperchen an den Innenwänden von Gefäßen im Gewebe und in verschiedenen Organen haften bleiben. Unter dem Mikroskop lässt sich das gut beobachten: Die infizierten Blutzellen rollen zunächst an den Gefäßinnenwänden entlang, um dann regelrecht mit ihnen zu verkleben. Dies kann mit dem Verstopfen von kleinen Blutgefäßen enden und zu Organversagen und Tod führen.

Während sich die Parasiten in den Blutzellen des Menschen vermehren, wandeln sie sich in männliche und weibliche Formen um. Wenn nun eine Mücke einen infizierten Menschen sticht und dessen Blut saugt, entstehen im Körper der Mücke schnell männliche und weibliche Keimzellen, die einander befruchten und dann eine bewegliche Eizelle bilden. Diese Eizelle dringt in die Magenwand der Mücke ein. Dort bildet sie eine Zyste, in der pro Eizelle Hunderte bis Tausende weiterer Parasiten heranreifen. Aus der Zyste in der Magenwand

gelangen die Erreger in die Speicheldrüsen der Stechmücke – und von dort über den Stich der Mücke wieder in den Körper des Menschen. Das ist ein sehr langer und komplizierter Lebensweg, den nur sehr gut angepasste Parasiten mit jeweils spezifischen Oberflächenproteinen überstehen.

Molekulare Angriffsziele

Eines der Oberflächenproteine, das dem Malariaerreger dazu verhilft, sich derart erfolgreich an die unterschiedlichsten Bedingungen auf seinem Lebensweg anzupassen, ist CSP, das Protein, aus dem der erste Malariaimpfstoff namens RTS,S kreiert wurde. Ohne CSP (Circumsporozoite-Protein) verenden die Parasiten in den Zysten des Mückenmagens. Die Weltgesundheitsorganisation hat die Vakzine RTS,S im Jahr 2021 im Kampf gegen Malaria empfohlen, die Effektivität des Impfstoffs ist jedoch vergleichsweise niedrig. Ein anderes Oberflächenprotein mit dem Kürzel MSP1 (Merozoite Surface Protein-1) wurde von dem im Jahr 2020 verstorbenen Heidelberger Parasitologen Hermann Bujard als Grundlage für einen Impfstoff erforscht: Ohne MSP1 können die Parasiten nicht in die roten Blutkörperchen eindringen.



PROF. DR. FRIEDRICH FRISCHKNECHT studierte Biochemie an der Freien Universität Berlin und wurde dort zu Arbeiten an Pockenviren promoviert, die er am Europäischen Molekularbiologischen Laboratorium (EMBL) in Heidelberg durchführte. Es folgte ein vierjähriger Aufenthalt als Postdoktorand am Institut Pasteur in Paris (Frankreich), wo er seine Forschungen zu Malaria aufnahm. Von 2005 an baute Friedrich Frischknecht am Universitätsklinikum Heidelberg seine Arbeitsgruppe auf, seit 2014 ist er Professor für Integrierte Parasitologie am Zentrum für Infektiologie der Medizinischen Fakultät Heidelberg und Mitglied und stellvertretender Sprecher des Sonderforschungsbereichs 1129. Seine Arbeiten zur Malariaforschung wurden mit einem Starting Grant des Europäischen Forschungsrats (ERC) in Höhe von rund 1,5 Millionen Euro gefördert. Die im Beitrag beschriebenen Arbeiten wurden weitgehend von Johanna Ripp und Jessica Kehrer durchgeführt.

Kontakt: freddy.frischknecht@med.uni-heidelberg.de

Ein weiteres Oberflächenprotein des Parasiten ist CTRP (Circumsporozoite Protein and Thrombospondin-Related adhesive Protein): Parasiten, denen CTRP fehlt, schaffen es nicht, den Mückenmagen zu durchwandern. Ohne TRP1 (Thrombospondin-Related Protein 1) wiederum kommt der Parasit nicht aus der Zyste heraus, und ohne TRAP (Thrombospondin-Related Adhesion Protein) rutscht der Parasit nurmehr hilflos hin und her, erreicht nicht die Speicheldrüse der Mücke und kann beim nächsten Stich nicht auf den Menschen übertragen werden. Unsere Annahme ist, dass der Parasit all diese unterschiedlichen Proteine benötigt, um sich jeweils mit bestimmten Proteinen seiner Wirte zu verbinden, sei es im Magen oder in der Speicheldrüse der Mücke oder im Blut oder der Leber des Menschen. Nur dann kann er in die Organe seiner Wirte eindringen und sie zu seiner Vermehrung nutzen. Über die Proteinbindungspartner

der Wirte wissen wir jedoch im Unterschied zu den Proteinen des Parasiten bislang nur wenig.

Was wir jedoch wissen, ist, dass sich die Organe und ihre Zellen nicht nur in ihrer biochemischen Zusammensetzung, sondern auch in ihren physikalischen Eigenschaften unterscheiden: Die Zellen der Leber und der Haut beispielsweise sind nicht so zart und weich wie die Zellen des Endothels, der einlagigen Schicht, die Blutgefäße von innen schützend wie eine Tapete auskleidet. Auch die roten Blutkörperchen unterscheiden sich in ihren elastischen Eigenschaften, und bei Untersuchungen stellte sich heraus, dass die Parasiten nur in relativ weiche Blutkörperchen eindringen können. In Ostafrika gibt es Menschen, deren rote Blutkörperchen aufgrund einer genetischen Veränderung versteift sind: Das erschwert es dem Parasiten, in die roten Blutzellen einzudringen,



PROF. DR. CARMEN RUIZ DE ALMODÓVAR war bis Anfang 2022 Professorin für Vasculäre Dysfunktion an der Medizinischen Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg, bevor sie als Direktorin des Instituts für Neurovasculäre Zellbiologie an die Universität Bonn wechselte. Nach einem Studium der Biochemie an der Universität Granada (Spanien) wurde sie 2004 am Institut für Parasitologie und Biomedizin in Granada mit Arbeiten zum Zelltod (Apoptose) von Tumorzellen promoviert. Anschließend arbeitete sie als Postdoktorandin am Flämischen Institut für Biotechnologie in Leuven (Belgien), wo sie sich auf vasculäre Biologie und neurovasculäre Interaktionen spezialisierte. 2011 wechselte sie als Juniorforschungsgruppenleiterin an das Biochemie-Zentrum der Universität Heidelberg (BZH), 2018 übernahm sie ihre Professur an der Medizinischen Fakultät Mannheim. Carmen Ruiz de Almodóvars Forschungsarbeiten an der Universität Heidelberg wurden mit einem Starting Grant und einem Consolidator Grant des Europäischen Forschungsrats (ERC) in Höhe von rund 1,5 Millionen Euro beziehungsweise zwei Millionen Euro gefördert.

Kontakt: carmen.ruizdealmodovar@medma.uni-heidelberg.de

„Auf den härteren Gelen bewegen sich die Parasiten ohne jede Probleme; auf den weichen Gelen aber gelingt ihnen das nicht.“

SOME LIKE IT HARD

THE MOLECULAR ACHILLES' HEEL OF THE MALARIA PARASITE

FRIEDRICH FRISCHKNECHT & CARMEN RUIZ DE ALMODÓVAR

The word “parasite” invokes many, and quite different, connotations. Images of severe disease, slimy worms, evil-looking insects and complicated life cycles appear before our inner eye. In actual fact, parasitism is the most successful, and hence a perfectly normal, way of life for organisms. It should come as no surprise, then, that parasites resort to a number of interesting tricks in order to propagate. One of the most extensively researched parasites is the pathogen causing malaria, a disease that once ran rampant in Heidelberg, but is now confined to the tropics and which is transmitted by mosquitoes of the genus *Anopheles*.

To successfully navigate its complex life cycle, the parasite must pass through several different organs in the mosquito and in its human host. Sometimes it is carried along in the bloodstream, or the infected red blood cell rolls along the walls of blood vessels. Other times, it traverses the skin on winding paths or slips into the liver. Understanding these forms of movement and the proteins they involve in humans and in the parasite could lead to the development of new strategies in the fight against malaria. Our research teams focused their investigations on the form of the parasite that is injected into the human host by the mosquito, travels through the skin and bores into the liver cells. We were particularly interested in the interaction between the parasite and the walls of blood vessels. How does the parasite manage to pick the liver, of all organs? We discovered that the parasite slips off the soft vascular walls and is carried along through all of the organs, only to finally “get stuck” in the liver. ●

PROF. DR FRIEDRICH FRISCHKNECHT studied biochemistry at Freie Universität Berlin and earned his doctorate with research on smallpox viruses, which he carried out at the European Molecular Biology Laboratory (EMBL) in Heidelberg. He spent four years as a postdoc at the Institut Pasteur in Paris (France), where he developed an active interest in malaria. From 2005 onward, Friedrich Frischknecht built his research team at Heidelberg University Hospital. In 2014 he was appointed Professor of Integrative Parasitology at the Centre of Infectiology of the Medical Faculty Heidelberg and became a member and vice-spokesperson of Collaborative Research Centre 1129. His malaria research was funded through a Starting Grant of the European Research Council (ERC) to the tune of roughly 1.5 million euros. The investigations described in the article were carried out primarily by Johanna Ripp and Jessica Kehrer.

Contact: freddy.frischknecht@med.uni-heidelberg.de

PROF. DR CARMEN RUIZ DE ALMODÓVAR was a Professor of Vascular Dysfunction at Heidelberg University's Medical Faculty Mannheim until early 2022, when she transferred to the University of Bonn to become the new Director of the Institute of Neurovascular Cell Biology. She studied biochemistry at the University of Granada (Spain) and earned her doctorate at the Institute of Parasitology and Biomedicine in Granada in 2004 with a thesis on the cell death (apoptosis) of tumour cells. She then worked as a postdoctoral fellow at the Flemish Institute of Biotechnology (VIB) in Leuven (Belgium), where she specialised in vascular biology and neurovascular interactions. In 2011 she became head of a junior research group at Heidelberg University Biochemistry Center (BZH), and in 2018 accepted her chair at the Medical Faculty Mannheim. Carmen Ruiz de Almodóvar's research at Heidelberg University was funded through a Starting Grant and a Consolidator Grant of the European Research Council (ERC) amounting to roughly 1.5 million euros and two million euros, respectively.

Contact: carmen.ruizdealmodovar@medma.uni-heidelberg.de

“Parasites can move perfectly well on the harder gels, but are unsuccessful on the softer ones.”

Malariaforschung in Heidelberg

Die Malariaforschung an der Universität Heidelberg, der sich Arbeitsgruppen aus unterschiedlichen Fachgebieten widmen, hat eine lange Tradition mit einigen Meilensteinen: So begann der 2020 verstorbene frühere Direktor des Zentrums für Molekulare Biologie der Universität Heidelberg (ZMBH), Prof. Dr. Hermann Bujard, bereits in den 1980er-Jahren mit Forschungen zur Entwicklung eines Impfstoffs gegen Malaria, die er auch nach seiner Emeritierung 1999 weiterführte. Auf der Grundlage identifizierter Oberflächenproteine des Parasiten Plasmodium, die bei malariainfizierten Patient:innen eine Immunantwort auslösen, entwickelte die Arbeitsgruppe des Molekularbiologen schließlich einen Impfstoffkandidaten. Dieser wurde 2018 in der Abteilung Klinische Pharmakologie und Pharmakoepidemiologie des Universitätsklinikums Heidelberg erfolgreich auf Sicherheit, Verträglichkeit und die Fähigkeit zur Antikörperbildung hin getestet. Der 2016 verstorbene Mediziner und Biochemiker Prof. Dr. Heiner Schirmer, der lange am Biochemie-Zentrum der Universität Heidelberg (BZH) forschte und lehrte, entwickelte Methylenblau-basierte Medikamentenkombinationen gegen Malaria bei Kindern in Westafrika, wofür er 2002 den „Dream Action Award“ des niederländischen Chemiekonzerns DSM erhielt. Mit dem Preisgeld in Höhe von 1,3 Millionen Euro wurde eine Patientenstudie in Burkina Faso finanziert, um die Wirkstoff-Kombination zu testen. Das Projekt gehörte zum Heidelberger Sonderforschungsbereich „Kontrolle tropischer Infektionskrankheiten“ (SFB 544).

was die Menschen vor einer schweren Malariaerkrankung schützt.

Lange Wanderstrecken

Wir haben in unserer Arbeitsgruppe „Integrative Parasitologie“ am Zentrum für Integrative Infektionsforschung intensiv die beiden Formen des Malariaerregers untersucht, die die größeren Wanderungen unter-

nehmen: die beweglichen Eizellen und die sogenannten Sporoziten. Sporoziten sind diejenigen Formen des Parasiten, die sich in der Zyste im Mückenmagen bilden, in die Speicheldrüse der Mücke gelangen und über den Stich der Mücke und den Blutweg bis in die Leber des Menschen vordringen. Die Frage, die wir mit unseren Forschungsarbeiten zunächst beantworten wollten, lautete: Welche Proteine auf der Oberfläche der Endothelzellen im Innern der Blutgefäße binden an die Sporoziten und unterstützen deren Fortbewegung? Der therapeutische Gedanke dahinter: Die molekulare Verbindung der menschlichen Endothelzelle mit dem Parasiten ließe sich womöglich verhindern, zum Beispiel mit Antikörpern, die die molekulare Bindungsstelle blockieren.

Um unsere These zu prüfen, haben wir uns ein Experiment ausgedacht, das auf dem Papier vergleichsweise einfach aussah: Im Labor wollten wir Sporoziten mit Endothelzellen zusammenbringen und mit einer Videokamera aufzeichnen, wie sich die Sporoziten auf den menschlichen Zellen bewegen. Im nächsten Schritt wollten wir identifizierte Oberflächenproteine der Endothelzellen mit molekularbiologischen Methoden entfernen und dann beobachten, in welcher Weise die Bewegung der Parasiten davon beeinflusst wird. Der Versuch endete mit einer Enttäuschung: Die Sporoziten bewegten sich nicht auf den Endothelzellen. Wir wiederholten den Versuch mehrfach, um Fehler auszuschließen, wir verwendeten verschiedene Endothelzellen und führten zahlreiche Kontrollen durch – und wieder bewegte sich nichts. Als Erklärung blieb schließlich nur ein Grund: Könnte es womöglich sein, dass sich die Parasiten auf den Endothelzellen nicht bewegen, weil die Zellen unabhängig von der biochemischen Zusammensetzung schlichtweg zu weich für die Erreger sind?

Dieser Überlegung sind wir mit einem weiteren Versuch nachgegangen: Wir versetzten die Parasiten in künstliche Umgebungen, die sich ausschließlich in ihrer Elastizität unterscheiden. Dazu vernetzen wir Acrylamid, das dann ein schwabbeliges Gel bildet. Je nach Grad der Vernetzung lassen sich Gele mit unterschiedlicher Elastizität herstellen: Man kann die Acrylamid-

gele so weich wie Endothelzellen machen – oder so hart wie Muskel-, Haut- oder Leberzellen. Wenn man nun die Parasiten auf die unterschiedlichen Gele gibt, lässt sich beobachten, ob und wie sie sich darauf bewegen. Dabei zeigte sich: Auf den härteren Gelen bewegen sich die Parasiten ohne jede Probleme; auf den weichen Gelen aber gelingt ihnen das nicht.

Es stellt sich die Frage, was das biologisch zu bedeuten hat. Menschen werden von den Mücken oft an Händen oder Füßen gestochen – der Parasit hat dann einen sehr weiten Weg vor sich, um via Blutgefäße zur Leber, seinem eigentlichen Ziel, zu gelangen. Würde er auf dieser Strecke mit seinen Oberflächenproteinen unentwegt an die Endothelzellen der Blutgefäße andocken, drohte er verloren zu gehen. Für sein Fortkommen und Überleben ist es besser, nicht an den Endothelzellen haften zu bleiben, sondern an den weichen Zellen vorbei zu rutschen.

Diesen Zusammenhängen gehen wir nun in weiteren Experimenten gemeinsam mit der Physikerin und Materialwissenschaftlerin Christine Selhuber-Unkel vom neu gegründeten Institute for Molecular Systems Engineering and Advanced Materials der Universität Heidelberg nach. Wir wollen dafür Gele herstellen, mit denen wir die feinen Unterschiede in der Steifigkeit von Zellen nachahmen können. Parallel dazu wollen wir messen, auf welchen Zellen sich der Parasit gut, schlecht oder gar nicht bewegt. Weitere interdisziplinäre Forschungsarbeiten erfolgen im Rahmen des Sonderforschungsbereichs „Integrative Analyse der Replikation und Ausbreitung pathogener Erreger“ der Deutschen Forschungsgemeinschaft mit Kolleginnen und Kollegen aus der Physik und der Chemie sowie den Ingenieurwissenschaften. ●