

INHALT

1

1. EINLEITUNG .

1.1 <i>TOXOPLASMA GONDII</i>	7
1.1.1 Biologie.....	7
1.1.2 Epidemiologie und Klinik	8
1.2 DIE IMMUNANTWORT GEGEN <i>T. GONDII</i>	8
1.2.1 Zelluläre Arme der adaptiven Immunantwort gegen <i>T. gondii</i>	9
1.2.2 Zytokine in der adaptiven Immunantwort gegen <i>T. gondii</i>	10
1.2.2.1 IL-12	10
1.2.2.2 IL-23	14
1.3 MAUSMODELLE DER INFektION MIT <i>TOXOPLASMA GONDII</i>	17
1.3.1 Infektion mit 10 Zysten.....	17
1.3.2 Infektion mit 100 Zysten.....	18
1.4 ZIELE.....	20

2. MATERIAL

21

2.1 TIERE UND PARASiten	21
2.1.1 Tiere	21
2.1.2 Parasiten	22
2.2 CHEMikALIEN UND REAGENZIEN	22
2.3 GERÄTE, PLASTIKWARE UND KOMMERZIELLE „KITS“	23
2.3.1 Geräte und Materialien	23
2.3.2 Plastikwaren	25
2.3.3 Kommerzielle „Kits“	25
2.4 PUFFER UND LÖSUNGEN	26
2.5 OLIGONUKLEOTIDPRIMER UND -SONDEN	27
2.6 ENZYME, ANTIKÖRPER	29
2.7 NÄHRMEDIEN UND SEREN	30
2.8 SONSTIGES	30
2.9 SOFTWARE UND DATENBANKEN	30

3. METHODEN

31

3.1 INFektION DER TIERE MIT <i>T. GONDII</i>	31
3.2 TÖTUNG DER TIERE UND ORGANENTNAHME	31
3.3 HISTOLOGISCHE METHODEN	31
3.3.1 Färbung mit Hämatoxilin und Eosin	32
3.3.2 Immunhistochemische Detektion von <i>T. gondii</i>	32
3.3.3 Auswertung der histologischen Schnitte und Aufnahme der Fotos	33
3.4 SERUMGEWINNUNG	34
3.5 ORGANKULTUR UND ORGANHOMOGENISATE	34

Inhaltsverzeichnis

3.6 ENZYME-LINKED-IMMUNABSORBENT-ASSAY (ELISA).....	34
3.7 ISOLIERUNG VON ZELLEN AUS MILZ UND MLN.....	35
3.8 DURCHFLUSSZYTOMETRIE	36
3.8.1 Oberflächenfärbung.....	36
3.8.2 Intrazelluläre Färbung.....	36
3.9 MOLEKULARBIOLOGISCHE TECHNIKEN.....	37
3.9.1 Isolierung von DNA	37
3.9.2 Isolierung von RNA.....	37
3.9.4 Quantitative PCR.....	37
3.9.4.1 Quantifizierung der DNA von <i>T. gondii</i>	37
3.9.4.2 Quantifizierung von IL-17, IL-23p19, IL-22, MMP-2, MMP-9, TIMP-1 und TIMP-3	38
3.10 GENERIERUNG VON KNOCHENMARKCHIMÄREN	39
3.10.1 Bestrahlung	39
3.10.2 Gewinnung und Transfer von Knochenmarkzellen und Milzzellen.....	39
3.10.3 Kontrolle des Chimärismus und der Rekonstitution der Zellen	40
3.10.3.1 Qualitative PCR	40
3.11 ZYMOGRAPHIE	41
3.12 STATISTIK	41
4. ERGEBNISSE	42
4.1. ROLLE DER UNTEREINHEITEN VON IL-12 IN DER PROTEKTIVEN IMMUNANTWORT GEGENÜBER <i>T. GONDII</i> ... 42	
4.1.1. Klinischer Verlauf, Gewicht und Überleben von IL-12p35 ^{-/-} , p40 ^{-/-} und p35/p40 ^{-/-} Mäusen nach oraler Infektion mit 10 Zysten <i>T. gondii</i>	42
4.1.2. Histologische Veränderungen in IL-12p35 ^{-/-} , p40 ^{-/-} und p35/p40 ^{-/-} Mäusen nach Infektion mit 10 Zysten <i>T. gondii</i>	43
4.1.3. Zahl der Parasiten in der Leber.....	45
4.1.4. Konzentrationen der Th1- und Th2-Zytokine in IL-12p35 ^{-/-} , p40 ^{-/-} und p35/p40 ^{-/-} Mäusen nach Infektion mit 10 Zysten <i>T. gondii</i>	45
4.1.5. Bestimmung von IL-12 und IL-18 nach Infektion mit <i>T. gondii</i>	47
4.1.6. Rolle von IL-23 in der protektiven Immunantwort gegen <i>T. gondii</i>	49
4.1.7. IL-23p19-Expression in IL-12p35 ^{-/-} , p40 ^{-/-} und p35/p40 ^{-/-} Mäusen nach oraler Infektion mit 10 Zysten <i>T. gondii</i>	49
4.1.8. IL-17-Konzentrationen in IL-12p35 ^{-/-} , p40 ^{-/-} , p35/p40 ^{-/-} , IRF-8 ^{-/-} und IL-18 ^{-/-} Mäusen nach Infektion mit 10 Zysten <i>T. gondii</i>	50
4.2 DIE ROLLE VON IL-23 IN DER TH1-IMMUNPATHOLOGIE NACH ORALER INFektION MIT <i>TOXOPLASMA GONDII</i>	51
4.2.1. Gewicht und Überleben	51
4.2.2. Histopathologische Veränderungen und Parasitenlast im Darm von Wildtyp und IL-23p19 ^{-/-} Mäusen	52
4.2.3. Konzentrationen proinflammatorischer Zytokine (IL-12, IFN-γ, IL-6, IL-17) in Wildtyp- und IL-23p19 ^{-/-} Mäusen nach Infektion mit 100 Zysten <i>T. gondii</i>	54

4.2.4. Expression und Aktivität von Matrixmetalloproteinasen im Darm von IL-23 ^{-/-} Mäusen nach Infektion mit 100 Zysten <i>T. gondii</i>	58
4.3. IL-18 UND DENDRITISCHE ZELLEN IN DER TH1-IMMUNPATHOLOGIE	
4.3.1. Suszeptibilität von Mäusen mit Knochenmarkchimärismus nach oraler Infektion mit 100 Zysten <i>T. gondii</i>	60
4.3.2. Histologische Veränderungen im terminalen Ileum nach oraler Infektion mit 100 Zysten <i>T. gondii</i>	61
4.3.3. IL-18-Konzentrationen in Wildtyp- und IL-18 ^{-/-} Mäusen nach Chimärismus und oraler Infektion mit 100 Zysten <i>T. gondii</i>	61
5. DISKUSSION	21
5.1 WELCHE ROLLE SPIELEN DIE EINZELNEN UNTEREINHEITEN VON IL-12 IN DER PROTEKTIVEN IMMUNANTWORT NACH ORALER INFektION MIT <i>T. GONDII</i> ?.....	63
5.2 IST IL-18 ESSENTIELL FÜR DIE PROTEKTIVE IMMUNANTWORT NACH ORALER INFektION MIT <i>T. GONDII</i> ?....	67
5.3 WELCHE ROLLE SPIELT IL-23 IN DER IMMUNPATHOLOGIE NACH ORALER INFektION MIT <i>T. GONDII</i> ?.....	69
5.4 WELCHE ZELLEN SEZERNIEREN DAS FÜR DIE FÜR DIE IMMUNPATHOLOGIE ESSENTIELLE IL-18 ?	68
6. ZUSAMMENFASSUNG	73
7. LITERATURVERZEICHNIS	77
8. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.	91
9. PUBLIKATIONEN	95