

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abbildungen	V
Tabellen	VII
Abkürzungen	VIII
1. Einleitung.....	1
2. Literatur	3
2.1. <i>Aspergillus fumigatus</i>	3
2.1.1. Taxonomie.....	3
2.1.2. Vorkommen, Prävalenz und Bedeutung	3
2.1.3. Entwicklungszyklus und Morphologie.....	3
2.1.4. <i>Aspergillus fumigatus</i> als Krankheitserreger	6
2.1.4.1. Bedeutung in der Humanmedizin	6
2.1.4.2. Bedeutung in der Veterinärmedizin	8
2.1.5. Die physiologische Immunabwehr des Wirtes.....	12
2.1.5.1. Angeborene Immunabwehr	12
2.1.5.2. Erworbene Immunabwehr	15
2.1.6. Diagnostik invasiver Aspergillosen	18
2.1.7. Therapeutische Optionen bei <i>Aspergillus</i> -assoziierten Erkrankungen	21
2.2. Tiermodelle zur Erforschung <i>A. fumigatus</i> -assoziiierter Erkrankungen	23
2.2.1. Bisher etablierte Tiermodelle.....	23
2.2.2. Das Hausschwein als translationales Tiermodell	25
2.2.2.1. Vergleichende Aspekte der Anatomie	25
2.2.2.2. Vergleichende Aspekte des Immunsystems.....	26
3. Material und Methoden.....	28
3.1. Material.....	28
3.1.1. Laborgeräte	28
3.1.2. Verbrauchsmaterialien	29

3.1.3.	Pharmazeutika, Chemikalien und Reagenzien.....	30
3.1.4.	Kommerzielle Sets	31
3.1.5.	Stimulatoren und Inhibitoren	31
3.1.6.	Zytokine und Wachstumsfaktoren	32
3.1.7.	Medien, Lösungen und Puffer	32
3.1.8.	Monoklonale Antikörper, Zellfarbstoff und magnetische Mikrobeads	33
3.1.9.	Software	34
3.2.	Methoden	35
3.2.1.	Ethikerklärung	35
3.2.2.	Tiere, Probennahme und Sektion.....	35
3.2.3.	Experimenteller Ablauf der <i>A. fumigatus</i> -Aerosolisierung	36
3.2.4.	Isolierung porziner mononukleärer Zellen aus peripherem Blut, Lungengewebe, Lungenlymphknoten und Milzgewebe	38
3.2.5.	Restimulation der mononukleären Zellen mit <i>A. fumigatus</i> -Lysat	38
3.2.6.	Antigen-reaktive Anreicherung von porzinen CD154 ⁺ T-Helferzellen.....	39
3.2.7.	Expansion und autologe Restimulation von <i>A. fumigatus</i> -reaktiven Th-Zellen	39
3.2.8.	Durchflusszytometrie	40
3.2.9.	Rekultivierung der bronchoalveolären Spülflüssigkeit.....	40
3.2.10.	Histologische Untersuchung des Lungengewebes.....	40
3.2.11.	Pilz-DNA-Extraktion aus bronchoalveolärer Lavage und Serum.....	41
3.2.12.	<i>Aspergillus</i> -spezifische Real-time-PCR.....	41
3.2.13.	Leukozytenzählung und Differentialblutbild.....	42
4.	Ergebnisse	43
4.1.	Detektion und Charakterisierung <i>A. fumigatus</i> -reaktiver Th-Zellen in Blut und Lungengewebe konventionell gehaltener Schweine	43
4.2.	Analyse der <i>A. fumigatus</i> -spezifischen sowie gesamten T-Helferzellantwort nach experimenteller Konidienexposition.....	47
4.2.1.	Aerolisierung von <i>A. fumigatus</i> Konidien mittels Ultraschallvernebler in einer Aerosolkammer	47

4.2.1.1.	Evaluierung und Validierung der angestrebten Konzentration an <i>A. fumigatus</i> -Konidien in der Aerosolkammer	47
4.2.1.2.	Überwachung der Konidienkonzentration in der Aerosolkammer während der experimentellen Exposition der Schweine	48
4.2.1.3.	Nachweis der <i>A. fumigatus</i> -Konidien in der porzinen Lunge nach experimenteller Exposition	49
4.2.2.	Studiendesign der experimentellen <i>Aspergillus</i> -Exposition gesunder Schweine aus konventioneller Tierhaltung	51
4.2.3.	Ergebnisse der <i>A. fumigatus</i> -spezifischen Diagnostik	51
4.2.4.	Detektion <i>A. fumigatus</i> -spezifischer T-Zellen in Blut, Lungengewebe und Lungenlymphknoten nach experimenteller <i>Aspergillus</i> -Exposition	53
4.2.5.	Magnetische Anreicherung und Charakterisierung <i>A. fumigatus</i> -spezifischer Th-Zellen in Blut, Lungengewebe und Lungenlymphknoten	57
4.2.6.	Antigen-unspezifische Analyse der T-Helferzellantwort nach experimenteller Exposition mit <i>Aspergillus</i> -Konidien	62
4.3.	Vergleichende Analyse der <i>A. fumigatus</i> -spezifischen sowie gesamten T-Helferzellantwort von immunkompromittierten und immunkompetenten Schweinen nach experimenteller Exposition	64
4.3.1.	Etablierung eines geeigneten Immunsuppressionsregimes	64
4.3.2.	Ergebnisse der <i>A. fumigatus</i> -spezifischen Diagnostik	67
4.3.3.	Anreicherung und Charakterisierung <i>A. fumigatus</i> -spezifischer CD4 ⁺ T-Zellen aus Blut und Lungengewebe von immunkompromittierten und immunkompetenten Schweinen im Vergleich	68
4.3.4.	Antigen-unspezifische Analyse der T-Helferzell-Antwort nach experimenteller Exposition mit <i>Aspergillus</i> -Konidien von immunkompromittierten Schweinen	72
4.4.	Analyse der akuten <i>Aspergillus</i> -spezifische T-Zellantwort im porzinen Lungengewebe nach experimenteller Exposition	74
4.4.1.	Akute pulmonale <i>Aspergillus</i> -spezifische Th1-Antwort	74
4.4.2.	<i>Aspergillus</i> -spezifische Th17-Antwort nach experimenteller Exposition	77
5.	Diskussion	82
5.1.	<i>A. fumigatus</i> -spezifische Th1-Zellen in gesunden Schweinen aus konventioneller Tierhaltung	84

5.2. Pulmonale Akkumulation porziner, pilzreaktiver Th-Zellen nach experimenteller *Aspergillus*-Exposition 88

5.3. Drastische Reduktion der pulmonalen *Aspergillus*-reaktiven Th-Zellantwort infolge einer temporären Immunsuppression 92

5.4. *Aspergillus*-reaktive Th17-Antwort lokal im Lungengewebe experimentell exponierter Tiere 96

5.5. T-Zell-Rezeptor-unabhängige Aktivierung porziner Th1-Zellen nach experimenteller *Aspergillus*-Exposition 99

5.6. Potenzial des Schweines als translationales Tiermodell zur Erforschung *Aspergillus*-assoziierter Erkrankungen 100

6. Zusammenfassung 106

7. Summary 107

Literaturverzeichnis 108

Publikationsliste XI

Finanzierungsquellen XII

Interessenskonflikte XII

Danksagung XIII

Selbstständigkeitserklärung XV