

4 Diskussion

Im Folgenden werden Methodik und Ergebnisse der vorliegenden Arbeit diskutiert. Zunächst erfolgt eine kritische Bewertung der angewendeten Methoden, anschließend folgt die Einordnung der Ergebnisse zur Epidemiologie der plazentaren *P. falciparum*-Infektion und den klinischen Manifestationen dieser Infektion. Im Anschluss wird die Bedeutung von HbAS und HbAC für die Prävalenz der plazentaren Malaria und ihren klinischer Auswirkungen diskutiert.

4.1 Kritische Bewertung der verwendeten Methoden

4.1.1 Studienaufbau

Im Rahmen einer Querschnittsstudie werden in der Regel Aussagen zu Häufigkeiten eines oder mehrerer Faktoren gemacht. Eine Querschnittsstudie bietet die Möglichkeit, in relativ kurzer Zeit und auch bei lückenhafter Infrastruktur, wie in Agogo gegeben, eine große Anzahl von Probanden einzuschließen. So konnten innerhalb von wenigen Monaten 756 Gebärende und deren Neugeborene in die Studie aufgenommen werden. Trotz der biologisch sinnvollen Unterteilung in Erstgebärende und Mehrgebärende, und trotz der Stratifizierung nach Hb-Typ der Mutter, sind durch diese hohe Fallzahl einige Befunde darstellbar, die bei einer kleineren Probandenzahl wahrscheinlich nicht deutlich geworden wären. Eine Querschnittsstudie ist nur bedingt geeignet, wenn es darum geht, kausale Zusammenhänge aufzudecken. Bei Vorhandensein von kontinuierlichen, chronischen Erkrankungen oder einer Disposition, können jedoch Assoziationen zwischen Prävalenzen erkannt werden (Kreienbock und Schach, 1997). Sowohl der Hb-Typ der Mutter, als auch die überwiegend als chronisch anzusehende *P. falciparum*-Infektion der Plazenta sowie die klinischen Auswirkungen Anämie und niedriges Geburtsgewicht erfüllen diese Vorraussetzungen. Ein weiterer Aspekt spricht für die Durchführung einer Querschnittsstudie. Nur wenige Frauen kommen im Verlauf der Schwangerschaft regelmäßig zur Vorsorgeuntersuchung ins Krankenhaus. Die Compliance ist häufig schlecht, und Rekrutierung und Aufrechterhaltung einer ausreichend großen Studiengruppe erfordert einen erheblichen logistischen Aufwand. Im Rahmen einer Langzeitstudie müssen außerdem die an Malaria erkrankten Mütter einer suffizienten Behandlung zugeführt werden. Eine solche Behandlung ist medizinisch notwendig (WHO, 2000a,b) und kann den Probandinnen einer wissenschaftlichen Studie aus ethischen Gründen nicht vorenthalten werden. Der natürliche Verlauf einer chronischen, bzw. chronisch-rezidivierenden Malaria in der Schwangerschaft wäre bei einer derartigen Intervention

allerdings nicht mehr beobachtbar. Schließlich ist die Gewinnung der für die Diagnostik der plazentaren Malaria benötigten plazentaren Proben ohne Risiko für die Mutter und das Neugeborene nur zum Zeitpunkt der Geburt gegeben.

4.1.2 Bestimmung hämatologischer Parameter

Die Bestimmung von Erythrozytenzahl, Leukozytenzahl, MCV und Hämatokrit erfolgte mit einem halbautomatischen Zellzähler (HC555). Durch klimatische Bedingungen vor Ort, die zu einer Kondenswasserbildung im Bereich der Photozelle führten, war eine korrekte Messung des Hämoglobingehaltes mit diesem Gerät nicht sicher gegeben. Daher wurde zur Bestimmung des Hämoglobingehaltes ein HemoCue® Photometer verwendet. Ausschließlich die Hämoglobinwerte dieser Messungen werden in vorliegender Arbeit verwendet. Der HemoCue® Photometer weist Ergebnisse auf, die nur in vernachlässigbarem Ausmaß von denen konventioneller Zellzählgeräte abweichen (Stoltzfus, 1997). Die korpuskulären Messungen wurden nicht durch diese technischen Probleme beeinflusst.

4.1.3 Gewinnung von plazentarem Blut

Die Plazenten wurden in der Mehrzahl der Fälle direkt nach der Expulsion vom Kreissaal in das nahe gelegene Labor gebracht. Der Transport erfolgte in mit NaOH dekontaminierten Behältern. War eine sofortige Untersuchung nicht möglich, erfolgte die Lagerung für höchstens 12 Stunden bei 4° C. Durch dieses Vorgehen konnte ein Flüssigkeitsverlust weitestgehend vermieden werden. Die Gewinnung von plazentarem Blut erfolgte durch eine tiefe Inzision parazentral; erst anschließend wurden Nabelschnur und Eihäute entfernt, so dass eine Verdünnung des plazentaren Blutes durch fetales Blut eher geringgradig ist.

4.1.4 Bestimmung des Gestationsalters und Geburtsgewichtes

Zur Bestimmung des Gestationsalters wurde ein von Finnström *et al.* (1977) entwickeltes Verfahren benutzt, welches verschiedene Kriterien, wie die Durchsichtigkeit der Haut, Größe der Mamillen, Ausprägung der plantaren Hautfältelung etc. zur Beurteilung der Reife heranzieht und durch ein Punkteschema die Abschätzung des Gestationsalters erlaubt. Der Vorteil dieses Verfahrens liegt in seiner relativ leichten Anwendbarkeit. So konnte, trotz Anwendung des Verfahrens durch verschiedene Untersucher, eine Vergleichbarkeit bzw. Standardisierung der Ergebnisse erreicht werden. Eine mögliche Fehlerquelle ergibt sich aus der Tatsache, dass dieses für Kaukasier entwickelt wurde. Bisher liegen keine Untersuchungen darüber vor, inwiefern es auch für afrikanische Neugeborene die korrekte Beurteilung des Gestationsalters ermöglicht. Aufgrund des dichteren Kopfhaares und der

stärkeren Hautpigmentierung ist denkbar, dass die Kinder unserer Studie tendenziell als zu reif beurteilt wurden. Ein vergleichbares Verfahren, welches auf die besondere Physiognomie schwarzer Neugeborener abgestimmt ist, existiert nicht. Eine Ermittlung des Gestationsalters anhand von Angaben der Vorsorgeuntersuchungen der Schwangeren bot sich aufgrund verschiedener Fehlerquellen nicht an. Zum Einen war nur ein Teil der Frauen überhaupt zu einer Vorsorgeuntersuchung erschienen; zum Anderen werden in Agogo der Großteil der Daten zum Verlauf der Schwangerschaft durch unterschiedliche Hebammen rein anamnestisch und klinisch erhoben, so dass eine Standardisierung nicht gegeben wäre.

4.1.5 Nachweis plazentarer Parasitämien mittels Mikroskopie und PCR

Die Untersuchung der plazentaren Parasitendichte erfolgte durch Auszählung der Parasiten auf 100 Blickfeldern im Dicken Tropfen. Durch diese Methode war eine hohe Sensitivität gegeben. Andere Studien beschreiben die plazentare Parasitämie durch Auszählung der Parasiten auf 200 Leukozyten (Tjitra *et al.*, 1999). Da keine Normwerte zu Leukozytenzahlen in plazentarem Gewebe vorliegen und diese zudem im Rahmen einer Massiven Chronischen Intervillositis bei Malaria (Ordi *et al.*, 1998) erheblichen Schwankungen unterliegen können, sind derartige Messungen ungenau. Ein Nachteil der Auszählung bezogen auf 100 Blickfelder liegt in der fehlenden Vergleichbarkeit zu Veröffentlichungen, die Parasitämien als Parasiten pro μl Blut angeben. Mittels Mikroskopie nicht erfassbare Parasitendichten wurden mit Hilfe der PCR nachgewiesen. Bei dieser Methode können Parasitendichten von ungefähr 2,5-20 Parasiten/ μl Blut nachgewiesen werden (Snounou *et al.*, 1993; May *et al.*, 1999).

4.2 Diskussion der Ergebnisse

Die plazentare Infektion mit *P. falciparum* ist bei Schwangeren in Endemiegebieten häufig und führt zu mütterlicher Anämie, vermindertem Geburtsgewicht und Frühgeburtlichkeit. Ein durch bestimmte genetische Faktoren vermittelter Schutz vor einer Infektion mit Plasmodien, bzw. vor den klinischen Auswirkungen dieser Infektion, wird seit längerem postuliert. Für HbS wurde ein protektiver Einfluss bei Kindern bereits bewiesen. In den letzten Jahren mehren sich die Hinweise, dass ein ähnlicher Zusammenhang auch für HbC besteht.

Bisher erwiesen sich in der Mehrzahl der Untersuchungen Kinder als die geeigneten Probanden, da bei diesen aufgrund einer noch nicht vollständig ausgebildeten Immunität genetische Faktoren stärker zum Tragen kommen als bei Erwachsenen. Über den Einfluss von HbAS und HbAC bei Schwangeren, insbesondere über die plazentare Infektion und ihre

klinischen Auswirkungen, existieren nur wenige Veröffentlichungen. Erstschwangere sind im Vergleich mit Mehrgebärenden besonders gefährdet, da sie hinsichtlich Schwangerschafts-spezifischer *P. falciparum*-Stämme noch keine Immunität aufgebaut haben. Hieraus könnte gefolgert werden, dass sich genetische Einflüsse bei diesen stärker auswirken als bei Mehrgebärenden und nichtschwangeren Erwachsenen.

In dieser Arbeit sollte – mit besonderem Augenmerk auf die Parität - untersucht werden, welchen Einfluss HbAS und HbAC auf die plazentare Infektion mit *P. falciparum* und deren klinische Auswirkungen haben. Aus unseren Beobachtungen ergeben sich erstmals Hinweise, dass HbAC bei Schwangeren einen gewissen Schutz vor Malaria-assoziiierter Anämie bewirkt. Auch konnte in dieser Arbeit erstmals ein Zusammenhang von HbAS und Protektion vor chronischer plazentarer Infektion mit *P. falciparum* nachgewiesen werden. Die wichtigsten Ergebnisse dieser Arbeit lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Frauen mit HbAS hatten seltener eine chronische Infektion der Plazenta mit *P. falciparum* als Frauen mit HbAA. Mütter mit HbAC wiesen niedrigere plazentare Parasitendichten auf als diejenigen mit HbAA. Der protektive Einfluss von HbAS konnte multivariat bestätigt werden. Der Einfluss des Hb-Typs war bei Erstschwangeren stärker als bei mehrgebärenden Frauen.
- Eine plazentare Infektion war bei Frauen mit HbAA mit einer deutlichen Erniedrigung des Hb-Spiegels assoziiert. Mütter mit HbAS und HbAC waren hiervon nicht, bzw. in geringerem Ausmaß betroffen. In multivariater Analyse konnte HbAC als protektiver Faktor vor einer Malaria-assoziierten Anämie ermittelt werden.
- Unabhängig von der Infektion brachten Erstgebärende mit HbAS im Mittel 245 Gramm schwerere Kinder auf die Welt als Primiparae mit HbAA. Bei Mehrgebärenden war der Hb-Typ nicht mit einer Veränderung des Geburtsgewichtes vergesellschaftet. In multivariater Analyse wurde die Prävalenz von niedrigem Geburtsgewicht (<2500 g) nicht durch den Hb-Typ beeinflusst.
- Das Gestationsalter, bzw. die Prävalenz von Frühgeburtlichkeit waren nicht mit dem Hb-Typ assoziiert.

4.2.1 Prävalenz der plazentaren Infektion mit *Plasmodium falciparum*,

Parasitendichten und Einflussfaktoren auf die Prävalenz der Infektion

Die Prävalenz mittels Mikroskopie diagnostizierter plazentarer Parasitämien betrug 34,5 % und lag somit im Trend vergleichbarer Studienergebnisse aus ländlichen Endemiegebieten im tropischen Afrika (Brabin, 1983; Mc Gregor, 1983; Sullivan *et al.*, 1999; Okoko *et al.*, 2002). Pigment fand sich bei 30,5 %. Andere Studien verzeichnen höhere Prävalenzen von Pigment in infizierten Plazenten (Walter, 1982; Bulmer *et al.*, 1993; Ismail *et al.*, 2000). In jenen Studien erfolgte die Diagnose jedoch nach histologischer Aufbereitung der Plazenten, und erfasste somit Pigment auch in Fibrinablagerungen und der Basalmembran. Die Infektionsprävalenz variierte in Abhängigkeit von der Parität. Primiparae waren häufiger infiziert als Multiparae, eine Beobachtung, die mit anderen Untersuchungen zur Malaria in der Schwangerschaft korreliert (Brabin, 1983; Mc Gregor, 1983; Mockenhaupt *et al.*, 2000 a; Okoko *et al.*, 2002; Bouyou-Akotet *et al.*, 2003). Am deutlichsten war der Unterschied zwischen Erst- und Mehrgebärenden bei der Häufigkeit von Pigment, als Nachweis einer chronischen Infektion (23 % vs. 43,3 %). Auch Mc Gready *et al.* (2002) wiesen bei Primigravidae höhere Pigmentkonzentrationen in plazentarem Gewebe nach. Bulmer *et al.* (1993) führten die starken Unterschiede hinsichtlich chronischer, plazentarer Infektion zwischen Erst- und Mehrgebärenden auf eine verminderte Fähigkeit Erstgebärender zurück, Parasiten aus dem plazentaren Gewebe zu eliminieren. Für die erhöhte Vulnerabilität Schwangerer, und besonders Erstgebärender, werden spezifische Stämme von *P. falciparum* verantwortlich gemacht (s. Einleitung). Die durchschnittliche Parasitendichte lag bei 85 Parasiten pro 100 Blickfelder. Die Erstgebärenden hatten höhere Parasitendichten als die Mehrgebärenden, eine Beobachtung, die ebenfalls durch den Mangel an stammesspezifischer Immunität dieser Frauen erklärt werden kann und Ergebnisse anderer Studien bestätigt (Ismail *et al.*, 2000). Ein häufiger Besuch der Schwangerenvorsorge war mit niedrigeren Infektionsprävalenzen assoziiert. Eine engmaschige Betreuung während der Schwangerschaft fördert die medikamentöse Malariaphylaxe und Aufklärung der Mutter hinsichtlich Malaria-präventiver Maßnahmen, zum Beispiel der Benutzung eines Moskitonetzes, und vermindert Morbidität von Mutter und Kind (WHO, 2003).

4.2.2 Klinische Auswirkungen der plazentaren Infektion auf die Mutter (Anämie)

Rund ein Drittel der Frauen hatte eine Anämie (34,4 %), nur 1,3 % wiesen eine schwere Anämie auf. Diese Prävalenz von Anämie ist im Vergleich mit anderen Studien in der Schwangerschaft in Malariagebieten niedrig (Shulman *et al.*, 1996; Mockenhaupt *et al.*, 2000;

Rogerson *et al.*, 2000). Dies kann dadurch erklärt werden, dass in vorliegender Arbeit Schwangere erst zum Zeitpunkt der Geburt untersucht wurden, ein Zeitpunkt zu dem oftmals die Hb-Spiegel wieder ansteigen (Brabin, 1990). Primiparae waren häufiger von einer Anämie betroffen als Multiparae, wie bereits Ergebnisse anderer Studien zeigten (Brabin, 1990; Mockenhaupt *et al.*, 2000 a & b). Sowohl die mikroskopisch als auch die mittels PCR nachgewiesene Infektion mit *P. falciparum* war mit einer Erniedrigung der Hb-Spiegel bzw. einer erhöhten Prävalenz von Anämie assoziiert. Pigment in der Plazenta, als Indikator einer chronischen Infektion, war der am deutlichsten mit Anämie assoziierte Faktor. Diese Beobachtung, die auf einen starken Einfluss der chronischen Infektion auf die Hb-Spiegel der Schwangeren schließen lässt, könnte durch die Pathophysiologie der malariabedingten Anämie erklärt werden. Einerseits kommt es bei einer *P. falciparum*-Infektion akut, innerhalb weniger Tage, zu einer vermehrten Erythrozytendestruktion durch Phagozytose und Ruptur befallener Erythrozyten, und durch beschleunigten Abbau in der Milz. Auch nicht-befallene Erythrozyten hämolysieren. Andererseits hat die Infektion eine Knochenmarkssuppression zur Folge, die mit einer verminderten Produktion von Retikulozyten einhergeht. Bei länger bestehender Infektion kommt es zu Dyserythropoese, die unter anderem durch eine verminderte Erythropoietinausschüttung verursacht wird. Eine chronische Anämie etabliert sich (Übersichten in Phillips & Pasvol, 1992; Menendez *et al.*, 2000).

Bei den Primiparae war die Erniedrigung des Hb-Wertes durch die Infektion stärker als bei den Multiparae. Bei Mehrgebärenden fallen offenbar andere Risikofaktoren als die Malaria für die Entwicklung einer Anämie ins Gewicht (Matteelli *et al.*, 1994; Shulman *et al.*, 1996), da bereits Abwehrmechanismen gegenüber den schwangerschaftsspezifischen Parasitenstämmen bestehen. Wichtige Risikofaktoren einer Anämie in der Schwangerschaft sind zum Beispiel Eisenmangel und Folsäuremangel; in Malariaendemiegebieten sind außerdem Infektionen wie Hakenwurmbefall und Bilharziose, aber auch hereditäre Hämoglobinopathien Ursachen einer Anämie (Übersicht in Fleming, 1989; Phillips & Pasvol, 1992; Van den Broek *et al.*, 1998). Auch eine HIV-Infektion muss als Ursache einer Anämie in Betracht gezogen werden (Rogerson *et al.*, 2003, Meda *et al.*, 1999). Genauere Daten zur HIV-Prävalenz im Studiengebiet liegen jedoch nicht vor.

Eine häufige Inanspruchnahme der Schwangerenvorsorge schützte vor einer Anämie (s. hierzu Kapitel 4.2.6.2.). Des Weiteren waren fiebernde Mütter häufiger von einer Anämie betroffen. Auch inflammatorische Prozesse anderer Genese als eine Malaria können eine Anämie verursachen (Mockenhaupt *et al.*, 2000 b; Rogerson *et al.*, 2003).

4.2.3 Klinische Auswirkungen der plazentaren Infektion auf das Kind (niedriges Geburtsgewicht und Frühgeburtlichkeit)

Rund ein Fünftel der Frauen (19,5 %) brachten ihre Kinder (Einlingsgeburten) mit einem Geburtsgewicht unter 2500 g auf die Welt. Erstschwangere hatten häufiger Kinder mit erniedrigtem Geburtsgewicht als Mehrgebärende; und das mittlere Geburtsgewicht unterschied sich um 301 g (Tabelle 1). Übereinstimmende Beobachtungen bezüglich der Prävalenz von niedrigem Geburtsgewicht und deren Abhängigkeit von der Parität wurden von anderen Untersuchern in ländlichen Malariagebieten Afrikas gemacht (Steketee, 1996; Menendez *et al.*, 2000; Osman *et al.*, 2001; Okoko *et al.*, 2002). Die plazentare Infektion (chronisch) und hohe Parasitämien waren in vorliegender Studie mit einer Erniedrigung des mittleren Geburtsgewichtes bzw. einer erhöhten Prävalenz von niedrigem Geburtsgewicht assoziiert, ein Zusammenhang, der bereits mehrfach beschrieben worden ist (Mc Gregor, 1983; Steketee, 1996; Guyatt *et al.*, 2001; Okoko *et al.*, 2002; Rogerson *et al.*, 2003). Bei den Erstgebärenden war die Erniedrigung des Geburtsgewichtes bei chronischer Infektion deutlicher (-140 g) als bei den Mehrgebärenden (-54 g). Ähnliche Unterschiede hinsichtlich der Geburtsgewichtsenkung bei Primi- und Multiparae registrierten Morgan *et al.* (1994). Bei Mehrgebärenden scheint die *P. falciparum*-Infektion kein entscheidender Risikofaktor für ein niedriges Geburtsgewicht zu sein.

Eine plazentare Malaria führt einerseits durch eine intrauterine Wachstumsverzögerung des Feten (IUGR, engl.: intrauterine growth retardation), andererseits durch Frühgeburtlichkeit zu erniedrigtem Geburtsgewicht. Hierbei spielen Zeitpunkt und Schwere der Infektion eine Rolle (Sullivan *et al.*, 1999). Eine akute, schwere Infektion, gekennzeichnet durch hohe plazentare Parasitendichten, führt vor allem gegen Ende der Schwangerschaft eher zu Frühgeburtlichkeit (Menendez *et al.*, 2000). Die Parasitämie induziert einen inflammatorischen Prozess in der Plazenta, bei dem es zu einem Ungleichgewicht bestimmter Entzündungsmediatoren und Zytokine wie TNF- α und Il-10 kommt, was die Frühgeburtlichkeit begünstigt. Auch fördert der Entzündungsprozess eine mütterliche Anämie, welche wiederum zu Frühgeburtlichkeit (Allen *et al.*, 1998; Suguitan *et al.*, 2003;) und erniedrigtem Geburtsgewicht des Kindes beiträgt (Meuris *et al.*, 1993). Die intrauterine Wachstumsverzögerung ist eher durch eine im Verlauf der Schwangerschaft fortbestehende bzw. rezidivierende plazentare Malaria bedingt (Ibhanesebhor *et al.*, 1992; Okoko *et al.*, 2002). Die chronische Entzündungsreaktion verursacht eine plazentare Insuffizienz mit Behinderung des feto-maternalen Sauerstoff- und Nährstofftransportes.

Eine Anämie der Mutter war in vorliegender Arbeit mit einem signifikanten Anstieg der Prävalenz von niedrigem Geburtsgewicht assoziiert. Diese Beobachtung stützt Ergebnisse anderer Studien, in denen vor allem die mütterliche Anämie als Manifestation einer *P. falciparum*-Infektion für ein erniedrigtes Geburtsgewicht des Kindes verantwortlich gemacht wird (Shulman *et al.*, 1996; Msolla *et al.*, 1997) bzw. in Kombination mit einer Infektion die klinischen Auswirkungen auf das Kind aggraviert (Meuris *et al.*, 1993). Frühgeburtlichkeit geht *per se* mit erniedrigtem Geburtsgewicht einher und war auch in vorliegender Arbeit der stärkste Einflussfaktor für ein niedriges Geburtsgewicht. So waren von den termingeborenen Kindern nur 10,9 % untergewichtig. Weitere Faktoren, die mit einer Erniedrigung des Geburtsgewichtes vergesellschaftet sind und in dieser Arbeit nicht berücksichtigt werden konnten, sind zum Beispiel Unterernährung der Mutter, aber auch Infektionen wie Syphilis und eine HIV-Infektion. So beschreiben Steketee *et al.* (1996) ein 2,6-fach erhöhtes Risiko für die Geburt eines Kindes mit niedrigem Geburtsgewicht bei HIV-Seropositivität. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen Menendez *et al.* (2000).

17,8 % der Neugeborenen kamen zu früh auf die Welt. Bei Erstgebärenden lag der Anteil mit 26,1 % doppelt so hoch wie bei Mehrgebärenden. Die erhöhte Anfälligkeit Erstgebärender für Frühgeburtlichkeit wurde bereits belegt (Brabin, 1990a). Hohe Parasitämien und die chronische placentare Infektion waren mit Frühgeburtlichkeit assoziiert. Dieses Ergebnis bestätigt frühere Studien (Sullivan *et al.*, 1999; Menendez *et al.*, 2000; Osman *et al.*, 2001).

Mütterliche Anämie erwies sich als wichtiger Risikofaktor für Frühgeburtlichkeit, ein mit anderen Untersuchungen korrelierendes Ergebnis. In Pakistan wurde gezeigt, dass mütterliche Anämie das Risiko einer Frühgeburt vervierfachte; das Risiko ein Neugeborenes mit niedrigem Geburtsgewicht zu gebären verdoppelte sich (Lone *et al.*, 2004). In einer Studie in Papua Neu Guinea war der mütterliche Hämoglobinwert der am stärksten mit Frühgeburtlichkeit assoziierte Faktor (Allen *et al.*, 1998).

Ein häufiger Besuch der Vorsorgeuntersuchungen verminderte die Prävalenz von niedrigem Geburtsgewicht und Frühgeburtlichkeit, wie bereits beschrieben wurde (Prazuck *et al.*, 1993; Steketee *et al.*, 1996; Rogerson *et al.*, 2003).

4.2.4 Häufigkeiten von HbS und HbC

Die Prävalenzen von HbAS, HbAC und Sichelzellanämie (s. Kapitel 3.6.) entsprechen annähernd den in vorhergehenden Untersuchungen vor Ort registrierten Genfrequenzen (Mockenhaupt *et al.*, 2000 b). Allerdings kam in vorliegender Arbeit HbAC bei den Mehrgebärenden dreimal so häufig vor wie bei Erstgebärenden; und auch der Median der Schwangerschaftszahl unterschied sich. Dieses Ergebnis könnte eine höhere Fertilität der

Frauen mit HbAC suggerieren, wie bereits andere Autoren für HbAS vermuteten (Tuck *et al.*, 1983; Hoff *et al.*, 2001). Die meisten Untersuchungen zu diesem Thema sprechen jedoch gegen einen Zusammenhang von Genotyp und Fertilität (Übersicht bei Madrigal, 1989). Die Fertilität wird durch zahlreiche Einflussfaktoren bestimmt. Unter anderem sind Bildung und Beruf der Frauen, aber auch religiöse und kulturelle Aspekte von Bedeutung (Isiugo-Abanihe *et al.*, 1993). Eine mögliche Erklärung für die höhere Schwangerschaftszahl der Frauen mit HbAC wäre auch deren in dieser Studienpopulation durchschnittlich um 2 Jahre höheres Alter.

4.2.5 Assoziation von HbS mit der Prävalenz der plazentaren Infektion und deren klinischen Auswirkungen

4.2.5.1 Die Auswirkungen von HbAS auf Infektionsprävalenz und Parasitämien

Mütter mit HbAS hatten weder für die mikroskopisch, noch für die mittels PCR diagnostizierten Infektionen signifikant niedrigere Prävalenzen als Frauen mit HbAA. Das Ergebnis vergleichbarer Infektionsprävalenzen bei Schwangeren mit HbAS und HbAA bestätigen andere Studien aus Afrika (Van Dongen & Van't Hof, 1983; Brabin & Perrin, 1985; Cot *et al.*, 1993; Bouyou-Akotet *et al.*, 2003). Bei Primigravidae mit HbAS in einem hyperendemischen Malariagebiet Nigerias waren Infektionsprävalenz und Parasitendichten niedriger als bei Primigravidae mit HbAA (Fleming, 1984). Die Frauen in Nigeria hatten allerdings ein sehr geringes Durchschnittsalter von 16 Jahren. In hyperendemischen Malariagebieten wird eine Immunität später erlangt als in holoendemischen Regionen. Diese Tatsache könnte in jener Studie dazu beitragen haben, dass die Protektion durch HbAS so deutlich war. Außerdem wurden nur Frauen im ersten und zweiten Trimester untersucht. In dieser Zeit sind Infektionsprävalenz und Parasitämien höher als gegen Ende der Schwangerschaft (Brabin, 1990; Rogerson *et al.*, 2000). Alle oben genannten Untersucher bestimmten die Parasitämie nur in peripheren venösen Blutproben Schwangerer mit zumeist unterschiedlicher Gestation; ein Zusammenhang von HbAS mit plazentaren Parasitämien und Pigment wurde nicht untersucht.

Frauen mit HbAA hatten in Agogo höhere plazentare Parasitendichten als diejenigen mit HbAS. Dieses Resultat stützt Ergebnisse von Untersuchungen bei Kindern. Eine Protektion von HbAS manifestiert sich im Kindesalter häufig durch niedrige Parasitämien (Stirnadel *et al.*, 1999; Lell *et al.*, 1999; Modiano *et al.*, 2001; Mockenhaupt *et al.*, 2004). In einer früheren in Ghana durchgeführten Studie an Schwangeren waren die Parasitendichten peripherer Blutproben bei den Frauen mit HbAS allerdings höher (Mockenhaupt *et al.*, 2000).

In vorliegender Arbeit fand sich eine chronische Infektion bei Frauen mit HbAS um ein Drittel seltener als bei denjenigen mit normalen Hb-Typ. In der multivariaten Analyse vermittelte HbAS ein um 43% erniedrigtes Risiko einer chronischen plazentaren Infektion. Dieser Befund zeigt erstmals Unterschiede der Prävalenz einer chronischen plazentaren Infektion mit *P. falciparum* zwischen Frauen mit HbAS und HbAA. Es ist wahrscheinlich, dass Unterschiede auch für akute Infektionen der Plazenta bestanden, dass diese jedoch nur dezent waren und mit den Mitteln vorliegender Querschnittsstudie nicht erfasst werden konnten. Auch ist denkbar, dass akute Parasitämien durch Einflussfaktoren, wie zum Beispiel Medikamenteneinnahme während der Schwangerschaft, unterdrückt wurden. Bei jenen Frauen wären dann keine Parasiten mehr nachweisbar, sondern nur noch Pigment als Hinweis einer stattgehabten Infektion. Trotz der Einschränkung einer Querschnittsstudie konnte also durch den Pigmentnachweis ein protektiver Effekt von HbAS belegt werden. Bei Primiparae mit HbAS wurde dieser Schutz sogar durch eine um annähernd die Hälfte reduzierte Prävalenz der chronischen Infektion deutlich, wohingegen Multiparae keine Unterschiede zeigten. Diese Beobachtung stützt die Ergebnisse von Fleming *et al.* (1984). Da Erstgebärende noch keine Immunität gegenüber CSA-bindenden Parasitenstämmen etabliert haben und anfälliger für *P. falciparum*-Infektionen sind (s. Einleitung), tritt bei ihnen der durch genetische Disposition vermittelter Schutz deutlicher hervor als bei Mehrgebärenden.

4.2.5.2 Die Auswirkungen von HbAS auf die Prävalenz malariaassoziiertes Anämie

Die Prävalenz der malariaassoziierten Anämie unterschied sich nicht zwischen den Müttern mit unterschiedlichem Hb-Typ. Auch in der multivariaten Analyse zeigte HbAS keinen Einfluss auf die Anämieprävalenz. Allerdings wurde in einer Varianzanalyse gezeigt, dass sich die Infektion bei HbAS und HbAA unterschiedlich auf die mittleren Hb-Spiegel auswirkt. Mütter mit HbAA waren bei chronischer plazentarer Infektion von einer Erniedrigung des Hb-Spiegels um durchschnittlich 1,2 g/dl betroffen; bei Frauen mit HbAS verringerte sich der Hb-Gehalt um rund 75 % weniger (0,3 g/dl). Ein protektiver Effekt von HbAS vor schwerer malariaassoziiertes Anämie wurde bei Kindern bereits bewiesen (Hill *et al.*, 1991; Aidoo, 2002; Mockenhaupt *et al.*, 2004). Untersuchungen an Schwangeren konnten bisher keine einheitlichen Ergebnisse liefern. Mockenhaupt *et al.* (2000) fanden bei Schwangeren mit HbAA und HbAS keinen unterschiedlichen Effekt der Infektion auf Hb-Spiegel. In jener Studie waren jedoch nur periphere Parasitämien einmalig im Verlauf der Schwangerschaft verglichen worden. Bei dem Nachweis von Pigment in der Plazenta, wie in vorliegender Arbeit durchgeführt, werden abgelaufene Infektionen zumindest der letzten Wochen miterfasst. Somit ist die Wahrscheinlichkeit, wenig eklatante jedoch vorhandene

Assoziationen aufzudecken, größer. Bei Primigravidae in Nigeria war der Hb-Typ nicht mit Unterschieden der Anämieprävalenz assoziiert (Fleming, 1984). Die Untersucher verglichen aber nur die Anämieprävalenz als solche, nicht jedoch die malariaassoziierte Anämie. Ein solches Vorgehen kann relevante Unterschiede überdecken. Allerdings fanden auch Van Dongen & Van't Hof (1983) bei Schwangeren mit HbAS und HbAA in Sambia keine Unterschiede der malariaassoziierten Anämie. In einer älteren Untersuchung war HbAS in der Schwangerschaft mit einem geringeren Auftreten von schwerer Anämie und Splenomegalie assoziiert (Fleming, 1968). Ein interessantes Ergebnis war in der Studie über Eisensubstitution zu beobachten (Menendez *et al.*, 1995): Eisensubstituierte Schwangere mit HbAS hatten niedrigere Hämoglobinspiegel als diejenigen ohne Eisengabe. Bei Frauen mit HbAA hingegen wirkte sich, wie erwartet, die Eisengabe positiv auf den mittleren Hämoglobingehalt aus. Dieses Ergebnis legt nahe, dass eine Eisenzufuhr die protektiven Eigenschaften von HbAS aufhebt bzw. abschwächt.

4.2.5.3 Mechanismen der Protektion von HbS

Der Protektion vor einer Infektion und deren (hämatologischen) Manifestationen liegen mit großer Wahrscheinlichkeit mehrere Mechanismen zugrunde, die auf physikalischen und/oder biochemischen Eigenschaften der HbS-enthaltenden Erythrozyten beruhen. Sowohl die Parasiteninvasion in die Zelle, als auch Wachstum und Entwicklung der Parasiten sind unter physiologischen Bedingungen *in vitro* eingeschränkt (Friedmann, 1978; Pasvol, 1980). Außerdem neigen HbS-enthaltende mit *P. falciparum* infizierte Erythrozyten verstärkt zur Sichelzellbildung (Luzzatto *et al.*, 1970; Friedmann, 1978; Roth *et al.*, 1978). Frühzeitige Elimination jener infizierten Zellen durch die Milz ist die Folge (Friedmann, 1978; Shear *et al.*, 1993). Ayi *et al.* (2004) konnten demonstrieren, dass mit frühen Ringformen infizierte, HbS-enthaltende Erythrozyten vermehrt phagozytiert werden. Dieser Prozess ähnelte dem der Phagozytose alternder oder oxidativ beschädigter Erythrozyten. Initiiert wird der Phagozytosevorgang durch Schäden der Erythrozytenmembran, die unter anderem die Aggregation von Bande 3-Protein und schließlich das Anbinden von autologem Immunglobulin G und Komplement bewirken. Eine Elimination früher Ringformen von *P. falciparum* würde einerseits die nach mehreren Vermehrungszyklen zu erwartende Parasitämie stark vermindern. Andererseits wäre durch die geringe Anzahl reifer infizierter Erythrozyten eine Verbesserung der Immunantwort zu erwarten. Reife infizierte Erythrozyten adhärieren an myeloischen dendritischen Zellen und Makrophagen und tragen auf diese Weise zur Immunsuppression während einer *P. falciparum*-Infektion bei (Urban *et al.*, 1999; Roberts & Williams, 2003).

Eine Beteiligung immunologischer Mechanismen an der schützenden Wirkung des Sichelzellgens wurde seit längerem vermutet, und in den letzten Jahren mehren sich die Hinweise für die Richtigkeit einer solchen Hypothese (s. Einleitung). Erst kürzlich wurde nachgewiesen, dass sich das Ausmaß der Protektion vor klinischer Malaria bei Kindern mit HbAS parallel zur Entwicklung der Immunität verändert (Williams *et al.*, 2005). Im Verlauf der ersten 10 Lebensjahre waren Kinder mit HbAS anfänglich nur zu 20% vor klinischer Malaria geschützt. Bis zum zehnten Lebensjahr stieg der Anteil auf bis zu schließlich 60% Protektion gegenüber Kindern mit HbAA, um danach wieder den Ausgangswert zu erreichen. Die Autoren schlossen aus dieser Beobachtung, dass die heterozygoten Kinder schneller bzw. effektiver malariaspezifische Immunität erlangen. Eine solche Akzeleration der Immunitätsentwicklung könnte prinzipiell auch bei den heterozygoten Schwangeren vorliegender Arbeit für die verminderte Prävalenz und Schwere der chronischen plazentaren Infektion verantwortlich sein. Erklärbar wäre dann auch, warum der protektive Effekt des Genes eher am Ende der Schwangerschaft nachweisbar ist, und offenbar nicht- wie negative Ergebnisse anderer Studien demonstrieren (Van Dongen & Van't Hof, 1983; Brabin & Perrin, 1985; Cot *et al.*, 1993; Mockenhaupt *et al.*, 2000; Bouyou-Akotet *et al.*, 2003) - im Verlauf der Schwangerschaft.

Eine Immunmodulation scheint also zumindest mitverantwortlich für den relativen Schutz von Individuen mit HbAS zu sein. Fraglich bleibt jedoch, welche Mechanismen überwiegen. Die Ergebnisse vorliegender Arbeit können zu dieser Fragestellung nur in geringem Ausmaß Hinweise beisteuern. Da die Etablierung der Immunität gegenüber schwangerschaftsspezifischen *P. falciparum*-Stämmen in holoendemischen Malariagebieten in der Regel innerhalb der ersten zwei Schwangerschaften abgeschlossen ist (Maubert *et al.*, 1999; Ricke *et al.*, 2000), sind die durch HbAS vermittelten Veränderungen der Immunitätsentwicklung auf einen kürzeren Zeitraum beschränkt als bei Kindern. Eine Langzeitstudie, die zu mehreren definierten Zeitpunkten während der Schwangerschaft parasitäre und klinische Parameter von Frauen unterschiedlichen Genotyps aufzeichnet, könnte zur Klärung dieser Frage beitragen.

Unklar ist auch, auf welche Weise HbAS die Immunantwort beeinflussen könnte. Die Phagozytose früher Ringformen (Ayi *et al.*, 2004) mit Konsequenzen für bei Infektion entstehende Immunsuppression ist eine mögliche Hypothese. Eine alternative Erklärung geht von der Beobachtung aus, dass Individuen mit HbAS in der Regel zwar vor schweren Manifestationen der Infektion und hohen Parasitendichten geschützt sind, nicht aber vor der Infektion *per se*. Die durch die angeborenen Faktoren abgeschwächte Infektion kann

langfristig im Organismus persistieren. Diese Chronizität der Infektion ermöglicht eine Auseinandersetzung des Immunsystems mit einer großen Anzahl von parasitären Antigenen und führt so letztlich zu einer schnelleren Erlangung der Immunität. Die Ergebnisse von Ntoumi *et al.* (1997) sprechen für diese Hypothese. Sie fanden bei Kindern mit HbAS eine gesteigerte Multiplizität parasitärer Antigene.

4.2.5.4 Die Auswirkungen von HbAS auf die Prävalenz eines erniedrigten Geburtsgewichtes und Frühgeburtlichkeit

In der Gesamtgruppe und bei HbAA war eine Infektion mit einer signifikanten Geburtsgewichtserniedrigung assoziiert, bei HbAS nicht. Dieser augenscheinlich unterschiedliche Einfluss des Genotyp konnte jedoch in der Varianzanalyse nicht untermauert werden. Mehrgebärende hatten unabhängig von Hb-Typ und Infektion annähernd gleichschwere Neugeborene. Bei Mehrgebärenden in Agogo sind offensichtlich andere Einflussfaktoren als die plazentare *P. falciparum*-Infektion für eine Verringerung des Geburtsgewichtes von Bedeutung (s. Kapitel 4.2.3.). Das Geburtsgewicht der Kinder nichtinfizierter Primiparae mit HbAS war 295 g höher als bei jenen mit HbAA, wohingegen die infizierten Erstgebärenden unabhängig vom Hb-Typ Kinder mit relativ niedrigem Geburtsgewicht hatten. So kam es bei den Erstgebärenden zu dem paradoxen Ergebnis, dass die plazentare Infektion bei HbAS eine signifikante Geburtsgewichterniedrigung auszulösen schien, nicht aber bei HbAA. Allerdings war nur ein geringer Anteil Erstgebärender mit HbAS überhaupt chronisch infiziert (Tab. 7). Es wäre denkbar, dass bei diesen acht Frauen andere Risikofaktoren die genetischen Einflüsse überwogen. In einer gesondert für Primiparae durchgeführten Varianzanalyse konnte ein unterschiedlicher Effekt der Infektion auf das Geburtsgewicht bei den verschiedenen Hb-Typen zudem nicht bestätigt werden. Das Ergebnis eines 245 g höheren Geburtsgewichtes der Kinder Erstgebärender mit HbAS bleibt allerdings auch unabhängig von einer Infektion bestehen (Kapitel 3.6.).

Tatsächlich wäre es denkbar, dass sich der vor Malaria schützende Effekt von HbAS gerade bei Erstgebärenden auch durch ein höheres Geburtsgewicht der Neugeborenen manifestiert. Dies könnte durch eine geringere Prävalenz plazentarer Malaria, niedrigere Parasitämien und auch einen Schutz vor malariaassoziierten Anämie bedingt sein. Studien aus malariafreien Gebieten verzeichnen entweder keine Unterschiede des Geburtsgewichtes Neugeborener von Müttern mit HbAS und HbAA (Hoff *et al.*, 2001; Abdulsalam *et al.*, 2003; Stamilio *et al.*, 2003) oder berichten von einem erniedrigten Geburtsgewicht der Kinder heterozyoter Frauen (Larrabee *et al.*, 1997). Die Sichelzellanämie geht mit einem erhöhten Risiko für niedriges Geburtsgewicht des Kindes, Prematurität und geburtshilfliche Komplikationen einher (Sun *et*

al., 2001; Sergeant *et al.*, 2004). Falls eine solche Tendenz auch bei heterozygotem Genstatus besteht, ist diese nach heutigem Kenntnisstand nur minimal. Okonofua (1990) konnte in Nigeria keinen Unterschied des Geburtsgewichtes der Kinder von Erstgebärenden mit HbAS und HbAA feststellen. Allerdings wurden in jener Studie anämische Primiparae ausgeschlossen. Da Anämie ein entscheidender Risikofaktor für ein erniedrigtes Geburtsgewicht ist (Lone *et al.*, 2004) und in malariaendemischen Gebieten eine Anämie vor allem bei Erstgebärenden häufig durch Malaria verursacht wird (Matteelli *et al.*, 1994; Shulman *et al.*, 1996), könnten in jener Studie bedeutende Informationen verloren gegangen sein. Unterschiede zwischen Frauen mit HbAS und HbAA hinsichtlich des Geburtsgewichtes der Neugeborenen suggeriert eine Untersuchung aus Gambia. Dort war bei Schwangeren mit HbAA die Eisengabe mit einer Erhöhung des Geburtsgewichtes des Neugeborenen assoziiert; bei Frauen mit HbAS mit einer Erniedrigung (Menendez *et al.*, 1995).

Die multivariate Analyse zeigte, dass HbAS in der Gesamtgruppe keinen Einfluss auf die Prävalenz von infektionsassoziiertem niedrigem Geburtsgewicht hatte. Frühgeburtlichkeit war naturgemäß ein starker Risikofaktor für ein erniedrigtes Geburtsgewicht. Weiterhin waren Primiparät und Anämie wichtige Risikofaktoren. Der Einfluss von Parität (Steketee *et al.*, 1996; Tako *et al.*, 2005) und Anämie (Tako *et al.*, 2005) auf das Geburtsgewicht Neugeborener ist bekannt.

Larrabee *et al.* (1997) berichteten über eine erhöhte Frühgeburtlichkeit bei Frauen mit HbAS. Andere Arbeiten konnten dies nicht bestätigen (Hoff *et al.*, 2001; Stamilio *et al.*, 2003). Auch in vorliegender Arbeit war HbAS nicht mit Frühgeburtlichkeit assoziiert. Bei Frauen mit HbAS war das Gestationsalter der Kinder bei chronischer plazentarer Infektion zwar weniger verringert als bei denen mit HbAA, dieser Unterschied erwies sich aber als nicht signifikant. Mehrgebärende waren seltener von Frühgeburtlichkeit betroffen als Erstgebärende, wie in anderen Untersuchungen bereits beschrieben (Steketee *et al.*, 1996; Prazuck *et al.*, 1993).

4.2.6 Assoziation von HbC mit der plazentaren Infektion und deren klinischen Auswirkungen

4.2.6.1 Die Auswirkungen von HbAC auf Infektionsprävalenz und Parasitämien

HbAC wirkte sich nicht auf die Häufigkeit einer plazentaren Infektion aus. HbAC war auch in der multivariaten Analyse nicht mit einem verminderten Infektionsrisiko assoziiert. Bisher existieren keine Untersuchungen über den protektiven Einfluss von HbAC bei Schwangeren. Das Ergebnis vergleichbarer Infektionsprävalenzen bei Probanden mit HbAC und HbAA wird

jedoch durch Untersuchungen an Kindern bestätigt (Thompson, 1962, 1963; Gilles *et al.*, 1967; Mockenhaupt *et al.*, 2004).

Die plazentare Parasitendichte war bei Frauen mit HbAC niedriger als bei Frauen mit HbAA. Bei den Erstgebärenden war dieser Unterschied ebenfalls feststellbar; bei Mehrgebärenden nicht. Die *per se* niedrigeren Parasitendichten Mehrgebärender (Kapitel 3.2.2.) erschweren eine statistische Aufdeckung von Unterschieden hinsichtlich des Hb-Typs. Niedrigere Parasitämien bei Schwangeren mit HbAC konnten bisher nicht nachgewiesen werden. Auch in Studien an ghanaischen Kindern (Thompson 1962, 1963; Mockenhaupt *et al.*, 2004) unterschieden sich die Parasitendichten der Kinder mit HbAC nicht von denen der Kinder mit HbAA. Die Ergebnisse vorliegender Arbeit stehen damit im Gegensatz zu vorhergehenden Arbeiten. Eine Reduktion der Parasitendichte *in vivo* stände allerdings im Einklang mit Ergebnissen aus *in vitro* Studien (Fairhurst *et al.*, 2003; Friedmann, 1979).

Der durch HbAC bzw. HbCC vermittelte Schutz scheint sich nach heutigem Kenntnisstand nicht durch eine geringere Infektionsprävalenz und auch nicht vornehmlich durch niedrigere Parasitendichten zu manifestieren. Vielmehr handelt es sich um einen relativen Schutz vor klinischer Malaria. Bisher nicht eindeutig geklärt werden konnte die Frage, ob HbC nur vor schweren Krankheitsverläufen, oder auch vor milder Erkrankung schützt. In Burkina Faso konnte HbAC mit einem Schutz vor unkomplizierter Malaria assoziiert werden (Rihet *et al.*, 2003). Modiano *et al.* (2001) definierten klinische Malaria als Fieber kombiniert mit dem mikroskopischen Nachweis von Parasiten im peripheren Blut. Sie zeigten, dass HbAC das Risiko einer klinischen Malaria um 30% senkte. In Mali konnten Agarwal *et al.* (2000) bei Individuen mit HbAC ein um 80% reduziertes Risiko feststellen, an einer schweren, hauptsächlich zerebralen Malaria zu erkranken. Vor milder Erkrankung schützte der heterozygote Genstatus in jener Population hingegen nicht. Mockenhaupt *et al.* (2004) verglichen in Ghana Kinder mit schwerer Malaria mit einer Gruppe asymptomatischer aber parasitämischer Kinder sowie einer gesunden Kontrollgruppe. Sie fanden bei den Kindern mit HbAC ein um 47% niedrigeres Risiko an einer schweren Malaria zu erkranken. Hierbei handelte es sich insbesondere um schwere Anämie.

4.2.6.2 Die Auswirkungen von HbAC auf die Prävalenz von Anämie

In der multivariaten Analyse hatten Frauen mit HbAC ein um 84 % erniedrigtes Risiko malariaassoziiertes Anämie. Mütter mit HbAA waren bei plazentarer Infektion von einer Erniedrigung der Hb-Spiegel um 1,2 g/dl betroffen. Mütter mit HbAC hatten bei Infektion dagegen um 0,6 g/dl höhere Hb-Spiegel als nicht-infizierte Mütter. Die Varianzanalyse bestätigte, dass sich der Effekt der Infektion auf die Hb-Spiegel bei HbAA und HbAC

unterschied. Diese Ergebnisse liefern erstmals konkrete Hinweise für einen protektiven Effekt von HbAC bei Schwangeren. Ein gemindertem Risiko (Mockenhaupt *et al.*, 2004) schwerer malariaassoziierter Anämie von annähernd 50% wurde bei Kindern mit HbAC bereits nachgewiesen. Da bei den Schwangeren im holoendemischen Malariagebiet von Agogo die Infektion mit *P. falciparum* nicht durch schwere Verläufe und schwere Anämie gekennzeichnet war, sondern sich eher durch die Chronizität der Infektion und eine moderate Anämie auszeichnete, ist ein direkter Vergleich der Ergebnisse nicht sinnvoll. Insgesamt bestätigt die vorliegende Arbeit jedoch die Beobachtung einer verminderter Schwere der *P. falciparum*-Infektion bei heterozygoten Individuen durch geringere Auswirkungen der Infektion auf hämatologische Parameter. In Mali konnten Diallo *et al.* (2004) bei Kindern mit unkomplizierter Malaria keine Unterschiede des Hämoglobingehaltes bzw. der Anämieprävalenz zwischen HbAA und HbAC feststellen. In jenem mesoendemischen Malariagebiet ist eine Anämie jedoch nicht die vorherrschende Manifestation einer schweren *P. falciparum*-Infektion bei Kindern, sondern die zerebrale Malaria. Eben vor dieser waren Kinder mit HbAC in Mali relativ geschützt (Agarwal *et al.*, 2000). Denkbar ist, dass die milde Anämie in jener Population durch andere Faktoren als die *P. falciparum*-Infektion beeinflusst wurde; auch nicht-infizierte Kinder hatten dort Anämieprävalenzen von 26 bis 38%.

4.2.6.3 Mechanismen der Protektion von HbC

Auf welche Weise die durch HbC vermittelte Protektion ihre Wirkung entfaltet, konnte bislang nicht abschließend geklärt werden. Fairhurst *et al.* (2003) zeigten, dass die Hemmung der Parasitenreplikation in HbCC-Zellen nicht durch eine verminderte Invasionfähigkeit des Parasiten entsteht. Vielmehr konnten sie in mehr als der Hälfte infizierter HbCC-Zellen einen Zerfall der Parasiten beobachten. Außerdem war die Ausbildung sogenannter "knobs" an der Oberfläche infizierter Erythrozyten eingeschränkt. Diese "knobs" beeinflussen die Adhäsionsfähigkeit infizierter Erythrozyten und tragen für die Pathogenität des Parasiten entscheidende Antigene. So könnte der Verlauf einer Malaria bei Patienten mit HbCC erstens durch reduzierte Replikation des Parasiten, zweitens durch eine modifizierte Antigenexpression und schließlich durch eingeschränkte Adhäsionsfähigkeit der infizierten Zellen abgemildert werden. Tatsächlich konnten die Autoren (Fairhurst *et al.*, 2005) kürzlich Veränderungen des Oberflächenproteins PfEMP-1 an HbAC- und HbCC-Erythrozyten feststellen. Die HbCC-Erythrozyten waren hiervon stärker betroffen. Diese Veränderungen korrelierten mit bestimmten Eigenschaften der infizierten HbAC/HbCC-Zellen:

1. Eine verminderte Adhäsion an Endothelien, die CD36 und ICAM-1 (intracellular adhesion molecule-1) exprimieren;
2. eine abgeschwächte Fähigkeit, mit nicht-infizierten Erythrozyten

sogenannte „Rosetten“ zu bilden; **3.** reduziertes Agglutinationsverhalten in Anwesenheit von Seren malariaimmuner Probanden. Rosetten sind Konglomerate nicht-infizierter Blutzellen, die sich um einen infizierten Erythrozyten versammeln. Dieses Phänomen wird über Liganden auf der Oberfläche infizierter Erythrozyten vermittelt (Chen *et al.*, 1998). Die Rosettenbildung sowie die Adhäsion an Endothelien tragen entscheidend zur Pathogenität *P. falciparums* bei und korrelieren eng mit der Schwere der Erkrankung (Rowe *et al.*, 1995; Miller *et al.*, 2002).

Letztlich könnten biochemische bzw. physikalische Veränderungen der infizierten HbAC/HbCC-Zellen auch zu einer verbesserten Immunantwort führen, wie für HbAS bereits postuliert wurde (Bayoumi *et al.*, 1990; Williams *et al.*, 2005). Auch eine gesteigerte Phagozytose infizierter Zellen, wie für verschiedene andere erythrozytäre Varianten gezeigt wurde (Übersicht in Roberts & Williams, 2003; Ayi *et al.*, 2004), könnte zum protektiven Effekt von HbC beitragen.

4.2.6.4 Die Auswirkungen von HbAC auf die Prävalenz eines erniedrigtes Geburtsgewichtes und Frühgeburtlichkeit

Bei Infektion verringerte sich das mittlere Geburtsgewicht der Neugeborenen von Frauen mit HbAA um 165 g. Für die Kinder der Mütter mit HbAC war eine geringere, nicht signifikante Abnahme des Geburtsgewichtes zu verzeichnen. In der Varianzanalyse konnte ein unterschiedlicher Effekt der Infektion auf das Geburtsgewicht jedoch nicht bestätigt werden. HbAC hatte auch in der multivariaten Analyse keinen Einfluss auf die Prävalenz von infektionsassoziiertem niedrigem Geburtsgewicht.

Das Gestationsalter der Kinder von Frauen mit HbAA verringerte sich bei chronischer plazentarer Infektion. Dies traf für Frauen mit HbAC nicht zu. In der Varianzanalyse erwies sich dieser scheinbar unterschiedliche Effekt ebenfalls als nicht signifikant. Auch multivariat hatte HbAC keine Auswirkung auf die Prävalenz von Frühgeburtlichkeit.

Bisher existieren keine Veröffentlichungen über einen Zusammenhang zwischen HbAC und Frühgeburtlichkeit und niedriges Geburtsgewicht. Die Ergebnisse dieser Arbeit sprechen dafür, dass kein Zusammenhang besteht, bzw. dieser als minimal angesehen werden kann. Die relative Protektion vor malariaassoziiertes Anämie könnte sich bei Schwangeren mit HbAC allerdings positiv auf das Geburtsgewicht der Neugeborenen und Frühgeburtlichkeit auswirken.

4.3 Schlussfolgerungen

Die plazentare Infektion mit *P. falciparum* war ein häufiger Befund in der Studiengruppe. Vor allem bei Erstgebärenden war die chronische plazentare Infektion mit Anämie, niedrigem Geburtsgewicht und Frühgeburtlichkeit assoziiert.

Mütter mit HbAC waren vor malariaassoziiertes Anämie geschützt. Somit ergeben sich mit dieser Arbeit erstmals Anhaltspunkte für einen protektiven Effekt von HbAC bei Malaria in der Schwangerschaft. Auch ergeben sich aus unseren Ergebnissen erstmals konkrete Hinweise für eine durch HbAS vermittelte Protektion vor plazentarer *P. falciparum*-Malaria und deren Folge niedriges Geburtsgewicht.

Ein Selektionsvorteil heterozygoter Individuen könnte also nicht nur durch eine geringere Mortalität und Morbidität im Kindesalter (Aidoo, 2002; Mockenhaupt *et al.* 2004) bedingt sein, sondern auch durch erhöhte biologische Fitness während der Schwangerschaft. Um für das Fortbestehen eines Gens in einer Population bedeutsam zu sein, müsste sich der Vorteil heterozygoter Frauen allerdings nicht nur durch parasitologische Parameter manifestieren, sondern auch hinsichtlich klinischer Symptome. Eben dies wurde in vorliegender Arbeit für HbAC, und mit Einschränkung auch für HbAS gezeigt.

Bei Kindern wurden bereits Beweise für eine geringere Mortalität bei HbAS geliefert (Aidoo, 2002). Zu welchem Anteil der von HbAS und HbAC vermittelte Selektionsvorteil Schwangerer zum Fortbestehen des Gens seit seiner Entstehung beigetragen hat, lässt sich schwer abschätzen. Daten über die tatsächliche Überlebenswahrscheinlichkeit der Mütter sowie der Neugeborenen liegen nicht vor. Allerdings konnte bereits im Tiermodell, sowie durch mathematische Berechnungen demonstriert werden (Li, 1976; Wright, 1978), dass auch geringfügige genetische Einflüsse auf die Fertilität, wie zum Beispiel eine nicht signifikant gesteigerte Überlebensrate Neugeborener mit HbAS durch höheres Geburtsgewicht, über mehrere Generationen hinweg eine Selektion verursachen können.

Der Schutz vor Malaria manifestierte sich bei den Frauen in Agogo unterschiedlich. Zu der Frage, welche der protektiven Mechanismen letztlich überwiegen, und in welchem Ausmaß auch eine Immunmodulation mitverantwortlich für den Effekt von HbS und HbC sein könnte, liefern die Ergebnisse vorliegender Arbeit keine Anhaltspunkte. Eine Langzeitstudie könnte zur Klärung dieser Frage beitragen.

Unklar bleibt letztlich auch, warum die Verbreitung von HbC trotz Protektion vor Malaria und benigner Morbidität bei Homozygotie zum heutigen Zeitpunkt auf ein relativ kleines Gebiet in Westafrika beschränkt ist. Eine mögliche Erklärung wäre, dass die Mutation erst vor kurzer Zeit aufgetreten ist. Dafür spricht auch der unizentrische Ursprung der Mutation

(Trabuchet *et al.*, 1991). Eine Erklärung für die langsame Verbreitung des Genes wäre außerdem, dass in erster Linie der homozygote Trägerstatus vor Malaria schützt. In Burkina Faso war bei Kindern mit HbCC das Risiko einer Malaria um 90% niedriger als bei der Kontrollgruppe mit HbAA. Der protektive Effekt erwies sich als um das dreifache erhöht im Vergleich mit heterozygoten Kindern (Modiano *et al.*, 2001). Letztgenannte Autoren schlugen vor, dass die protektiven Effekte von HbAC (HbCC) und HbAS kombiniert mit den in der Regel fatalen Konsequenzen von HbSS auf lange Sicht zu einer Verdrängung von HbS durch HbC in Nordafrika führen werde. Für diese Theorie spricht, dass in Gebieten mit hoher HbC-Prävalenz in der Regel HbS seltener zu finden ist als in geographisch vergleichbaren, malariaendemischen Gebieten, in denen HbC nicht vorkommt. Andererseits sprechen bisherige Untersuchungen dafür, dass die durch HbAS vermittelte Protektion stärker ist als der Effekt von HbAC (Thompson 1962, 1963; Ringelhann *et al.*, 1976; Mockenhaupt *et al.*, 2004).