

Aus dem Institut für Tropenmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Untersuchungen zur Bedeutung sozioökonomischer Faktoren und von
Promoterpolymorphismen von Interleukin 10 und Tumornekrosefaktor
alpha für die Malaria im ersten Lebensjahr in Ghana.**

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Katrin Fricke

aus Eisleben

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. U. Bienzle
2. Priv.-Doz. Dr. med. R. Ignatius
3. Prof. Dr. med. H. D. Nothdurft

Datum der Promotion: 25.06.2007

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Malaria	1
1.1.1. Entwicklungszyklus des Malariaerregers	1
1.1.2. Klinik der Malaria tropica	2
1.1.3. Immunität bei <i>Plasmodium falciparum</i> -Infektionen	2
1.1.4. Malaria im ersten Lebensjahr	4
1.1.5. Malaria und Anämie	5
1.1.6. Malariayahypothese: natürliche Selektion von Polymorphismen durch Malaria	6
1.2. Interleukin 10 und Tumornekrosefaktor alpha	7
1.2.1. Bedeutung und Funktion des Interleukin 10	7
1.2.2. Promoterpolymorphismen des Interleukin 10	8
1.2.3. Malaria und Interleukin 10	8
1.2.4. Promoterpolymorphismen des Tumornekrosefaktor alpha	9
1.2.5. Malaria und Tumornekrosefaktor alpha	10
1.3. Malaria und sozioökonomische Faktoren	10
1.4. Zielsetzung dieser Arbeit	12
2. Material und Methoden	13
2.1. Studienort	13
2.2. Studienrahmen	13
2.2.1. Rekrutierung der Probanden	13
2.2.2. Definition der Studiengruppe	14
2.2.3. Untersuchung und Beurteilung der Neugeborenen	14
2.2.4. Planung und Verlauf der klinischen Untersuchungen	15
2.2.5. Behandlungskriterien	16
2.2.6. Medikamente	16
2.2.7. Sozioökonomische Untersuchung der Probanden	16
2.3. Untersuchungen im Labor	17
2.3.1. Bestimmung der Parasitämien	17
2.3.2. Bestimmung des Hämoglobingehaltes	17
2.3.3. Bestimmung der Leukozytenzahl	18

INHALTSVERZEICHNIS

2.3.4.	Extraktion von DNA	18
2.3.5.	Nachweis der <i>Plasmodium falciparum</i> -Infektion mittels Polymerase-Kettenreaktion	19
2.3.6.	Bestimmung des Interleukin 10 –1082G/A–Promoterpolymorphismus	21
2.3.7.	Bestimmung des Tumornekrosefaktor alpha –308G/A–Promoterpolymorphismus	22
2.4.	Statistische Berechnungen	23
2.4.1.	Assoziationsberechnungen (χ^2)	23
2.4.2.	Varianzanalyse (ANOVA)	24
2.4.3.	Kumulative Inzidenz, relatives Risiko und Konfidenzintervall	24
2.4.4.	Kaplan-Meier-Methode	24
2.4.5.	McNemar-Test	25
2.4.6.	Pearson Korrelation	26
2.4.7.	Generalized estimating equation (GEE)	26
3.	Ergebnisse	27
3.1.	Klassifizierung der Studiengruppe und klinische Befunde	27
3.1.1.	Klinische Befunde bei Geburt	27
3.1.2.	Klinische Befunde zwischen der 4. und 52. Lebenswoche	27
3.2.	Punktprävalenzen und Merkmale der <i>Plasmodium falciparum</i> -Infektion in der Studiengruppe	29
3.3.	Hämatologische Parameter	32
3.4.	Genfrequenzen des Interleukin 10 –1082G/A- und Tumornekrosefaktor alpha –308G/A–Promoterpolymorphismus	35
3.5.	Einflussfaktoren auf Infektion, klinische Malaria und Malaria-Anämie	36
3.5.1.	<i>Plasmodium falciparum</i> -Infektion	36
3.5.1.1.	Wahrscheinlichkeit und Zeitpunkt der ersten <i>P. falciparum</i> -Infektion	36
3.5.1.2.	Häufigkeit des Auftretens einer <i>P. falciparum</i> -Infektion im ersten Lebensjahr	40
3.5.2.	Parasitendichte	43
3.5.3.	Klinisch-manifeste Malaria	46
3.5.3.1.	Wahrscheinlichkeit und Zeitpunkt des ersten Auftretens einer klinischen Malaria	46
3.5.3.2.	Häufigkeit des Auftretens einer klinisch-manifesten Malaria im ersten Lebensjahr	49
3.5.4.	Malaria-Anämie	52
3.5.4.1.	Wahrscheinlichkeit und Zeitpunkt des ersten Auftretens einer Malaria-Anämie	52
3.5.4.2.	Häufigkeit des Auftretens einer Malaria-Anämie im ersten Lebensjahr	56

INHALTSVERZEICHNIS

4.	Diskussion	62
4.1.	Kritische Bewertung der verwendeten Methodik	62
4.1.1.	Aufbau der Studie	62
4.1.2.	Nachweis der <i>P. falciparum</i> -Infektion durch die PCR und Mikroskopie	63
4.1.3.	Hämatologische Parameter	63
4.1.4.	Bestimmung der Promoterpolymorphismen von Interleukin 10 –1082G/A und Tumornekrosefaktor alpha –308G/A mittels PCR	64
4.1.5.	Ermittlung sozioökonomischer Einflussfaktoren	64
4.2.	Diskussion der Ergebnisse	65
4.2.1.	<i>P. falciparum</i> -Infektion, Parasitendichte und klinisch-manifeste Malaria	66
4.2.2.	Anämie und <i>P. falciparum</i> -Infektion	68
4.2.3.	Einfluss sozioökonomischer Faktoren auf die Basisparameter	69
4.2.4.	Einfluss genetischer Faktoren auf die Basisparameter	75
4.2.4.1.	<i>P. falciparum</i> -Infektion	75
4.2.4.2.	Parasitendichte	76
4.2.4.3.	Klinische Malaria	77
4.2.4.4.	Malaria-Anämie	79
4.2.5.	Vergleich des Einflusses genetischer und sozioökonomischer Faktoren	81
4.3.	Schlussfolgerungen	82
5.	Zusammenfassung	84
6.	Literaturverzeichnis	86

Anhang

Abkürzungen	a
Bezugsquellen	b
Lebenslauf	c
Danksagung	d
Erklärung	e

Anhang

Abkürzungen

AA	homozygot	mg	Milligramm
Abb.	Abbildung	ml	Milliliter
α	alpha	mM	millimolar
bp	Basenpaare	mRNA	engl.: messenger ribonucleic acid (mesenger Ribonukleinsäure)
°C	Grad Celsius	μl	Mikroliter
ca.	circa	μM	micromolar
CI	kumulative Inzidenz	n	Fallzahl
DNA	engl.: desoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)	ng	Nanogramm
dATP	Deoxyadenosintriphosphat	nm	Nanometer
dCTP	Deoxycytosintriphosphat	nM	nanomolar
dGTP	Deoxyguanintriphosphat	PCR	engl.: polymerase chain reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
dNTP	Deoxyribonukleotide	RNA	engl.: ribonucleic acid (Ribonukleinsäure)
dTTP	Deoxythymidintriphosphat	RR	Risikoverhältnis
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure	Tab.	Tabelle
g/dl	Gramm je Deziliter	Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
GA	heterozygot	TNF-α	Tumornekrosefaktor alpha
GG	Wildtyp	Tris	2-Amino-2 (hydroxymethyl)- propan-1,3-diol
GMPD	Geometrisches Mittel der Parasitendichte/ μ l Blut	U	unit (Einheit)
h	Stunde	UpM	Umdrehung pro Minute
Hb	Hämoglobin	v	Volumenanteil
IgG	Immunglobulin G	(v/v)	Volumen pro Volumen
IL-10	Interleukin 10	vs.	versus
i.m.	intramuskulär		
[KI]	Konfidenzintervall		
M	molar		

Bezugsquellen

Alle nicht näher bezeichneten Materialien, Reaktionsgefäße und Geräte stammen von den Firmen:

Becton Dickinson, Heidelberg

Biometra biomedizinische Analytik GmbH, Göttingen

Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim

Hemocue, Angelholm, Schweden

Kodak Ltd., Liverpool, UK

Merck KG, Darmstadt

Pharmacia LKB Biotechnology Inc., Piscataway, USA

Quiagen, Hilden

Roth, Karlsruhe

Sarstedt Inc., Newton, USA

Schleicher & Schüll Inc., Keene, USA

Carl Zeiss, Esslingen

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht!

Danksagung

Zunächst möchte ich meinen Eltern danken, die mir sowohl die Durchführung meines Studiums als auch die Erstellung der vorliegenden Arbeit ermöglicht haben.

Dem Institutsleiter Herrn Prof. Dr. U. Bienzle sei für seine wissenschaftliche Hilfe und Unterstützung gedankt.

Herrn Dr. F. P. Mockenhaupt danke ich für die Überlassung des Themas, seine wissenschaftliche Unterstützung und konstruktive Kritik.

Weiterhin möchte ich dem Statistiker Herrn E. Dietz für seine ausgezeichnete statistische Beratung und persönliche Unterstützung danken.

Für die freundliche Aufnahme und Mitarbeit an diesem Projekt im Presbyterian Mission Hospital Agogo danke ich Herrn Dr. Thompson, der Pädiaterin Frau Christiane von Gaertner, der Kinderkrankenschwester Grace, den Fieldworkern Mr. Lartey, Mr. Kcey und Joyce und den Labormitarbeitern O. S. Phans und Steven.

Für die finanzielle Unterstützung dieses Projektes danke ich dem Berliner Tropeninstitut.

Erklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die im Fachbereich Humanmedizin der Humboldt-Universität zu Berlin (Charité- Universitätsmedizin Berlin) zur Promotion eingereichte Arbeit mit dem Titel:

„Untersuchungen zur Bedeutung sozioökonomischer Faktoren und von Promoter-polymorphismen von Interleukin 10 und Tumornekrosefaktor alpha für die Malaria im ersten Lebensjahr in Ghana.“

am Institut für Tropenmedizin Berlin unter Leitung von Prof. Dr. med. U. Bienzle ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt habe. Die Arbeit stellt auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten dar. Die benutzten Hilfsmittel und die Literatur sind vollständig angegeben.

Ich habe bislang an keinem Medizinischen Fachbereich im In- oder Ausland eine Zulassung zur Promotion beantragt noch diese oder andere Arbeiten als Dissertation vorgelegt.

25.06.007

Katrin Fricke