

1. Einleitung

1.1. Malaria

Der dem Italienischen entstammende Begriff „mal'aria“ entstand auf Grund der Vorstellung, dass die „schlechte Luft“ in Sumpfgebieten verantwortlich für ihr Auftreten sei. Auch heute noch, mehr als 100 Jahre nach Entdeckung des verursachenden Erregers (1880 durch C.L. Laveran) und dessen parasitären Kreislaufes (1895 durch R. Ross), ist die Malaria eine der bedeutendsten parasitären Infektionskrankheiten der Erde. Sie stellt, zusammen mit HIV/AIDS und Tuberkulose, eine der größten Herausforderungen des öffentlichen Gesundheitssystems der Länder der Dritten Welt dar und beeinträchtigt deren wirtschaftliche Entwicklung in erheblichem Maße. Weltweit treten etwa 300-500 Millionen Neuerkrankungen pro Jahr auf. Vor allem Kleinkinder des subsaharischen Afrikas zählen zu den mehr als eine Million Todesopfern pro Jahr (Snow *et al.*, 1999; WHO „Roll Back Malaria“, 2001; Greenwood *et al.*, 2002; Sachs *et al.*, 2002). In diesem Lebensabschnitt stellt die Malaria eine der häufigsten Todesursachen bei afrikanischen Kindern dar.

1.1.1. Entwicklungszyklus des Malariaerregers

Unter den mehr als hundert Plasmodien-Spezies sind vier humanpathogene Formen von Bedeutung: *Plasmodium falciparum* mit der schweren Klinik der Malaria tropica, *Plasmodium ovale* und *vivax*, die zur Malaria tertiana führen, und schließlich *Plasmodium malariae*, welches die Malaria quartana hervorruft. Der Entwicklungszyklus findet sowohl im Endwirt Mensch als auch im Zwischenwirt *Anopheles*-Mücke statt. Die sich in den Speicheldrüsen der weiblichen *Anopheles*-Mücke vermehrenden Sporoziten werden bei einer Blutmahlzeit in den menschlichen Kreislauf injiziert und erreichen innerhalb von höchstens 45 Minuten die Leber. Am Ende der asexuellen Vermehrung in den Hepatozyten (Schizogonie) steht die Ruptur der Schizonten mit Freigabe mehrerer tausend Merozoiten aus einer Leberzelle. Bei einer Infektion durch *P. vivax* oder *ovale* können durch Hypnozoiten (ruhende Form der Plasmodien in den Hepatozyten, die erst später in das Blutstadium übergehen) mit einer zeitlichen Verzögerung von mehreren Wochen bis Monaten Malaria-Rezidive oder Spätmanifestationen auftreten. In dem sich anschließenden asexuellen Blutstadium befallen die Merozoiten die roten Blutkörperchen und durchlaufen in ihnen mehrere Entwicklungsstadien, an deren Ende auch hier die Ruptur der Erythrozyten steht. Die so in großer Anzahl freiwerdenden Merozoiten befallen nun wiederum andere Erythrozyten oder entwickeln sich, allerdings nur in geringem Umfang, zu Gametozyten,

der geschlechtlichen Form der Plasmodien, weiter. Diese Gametozyten können nun bei der nächsten Blutmahlzeit von der *Anopheles*-Mücke aufgenommen werden und sich im sexuellen Entwicklungszyklus vermehren. Die so entstehenden infektiösen Sporozoiten gelangen beim nächsten Stich erneut in den menschlichen Körper (Garnham, 1988; Markell *et al.*, 1992; White *et al.*, 1993; Hahn *et al.*, 1999).

1.1.2. Klinik der Malaria tropica

Die durch Infektion mit *P. falciparum* verursachte Malaria tropica ist die gefährlichste der drei Malariaformen. Ihre akute Manifestation ist zunächst durch uncharakteristische, grippeähnliche Symptome, wie Mattigkeit, Appetitlosigkeit, Durchfälle, Erbrechen, Kopf- und Gliederschmerzen, sowie Fieber, gekennzeichnet. Im weiteren Verlauf treten regelhaft Anämie und Hepatosplenomegalie hinzu. Das größte Problem stellen jedoch die Mikrozirkulationsstörungen und Gewebeischämien dar, die durch Bindung befallener Erythrozyten untereinander, an Rezeptoren der Endothelzellen, aber auch an nicht-befallene Erythrozyten hervorgerufen werden. Sie führen letztlich zu petechiale Blutungen und Nekrosen in den betroffenen Organen. Vor allem der Befall des Hirns (zerebrale Malaria), der Nieren und der Lunge kann innerhalb weniger Tage zum Tode führen. Auch ein Kreislaufversagen oder Schock können auftreten. Eine relative Immunsuppression mit folgenden sekundären, v.a. bakteriellen, Infektionen ist nicht selten.

Zu den am häufigsten bei Kindern anzutreffenden Komplikationen gehören Temperaturerhöhungen über 40°C, lebensbedrohliche Anämie, Hypoglykämie, Azidose, Dehydrierung, Krampfanfälle sowie gastrointestinale Beschwerden (Gilles, 1991; Steele, 1996; Hahn *et al.*, 1999).

1.1.3. Immunität bei *Plasmodium falciparum*-Infektionen

Für die Kontrolle der akuten Infektion sind sowohl unspezifische Abwehrmechanismen des Wirtes als auch die Entwicklung einer spezifischen zellvermittelten und humoralen Immunantwort von Bedeutung. So hemmen schützende Antikörper in Kooperation mit Makrophagen/Monozyten die Plasmodienvermehrung, indem sie befallene Erythrozyten opsonieren (Bouharoun *et al.*, 1990). Allerdings kommt es nicht zur Ausbildung einer sterilen Immunität und eines vollständigen klinischen Schutzes (Trape *et al.*, 1994), so dass erneute Infektionen immer wieder auftreten können. Ursächlich dafür sind wahrscheinlich sowohl die ausgeprägte Antigenvariabilität der Plasmodien (Roberts *et al.*, 1992) als auch die Ausbildung nur stammspezifischer Abwehrmechanismen (Ciuca *et al.*, 1934; Bull *et al.*, 1998). Eine sogenannte Semi-Immunität, die durch chronisch latente Infektionen, schwache oder fehlende klinische Symptomatik und geringe Parasitendichten gekennzeichnet ist, wird durch eine

1. EINLEITUNG

Vielzahl von Infektionen mit verschiedenen Plasmodien-Stämmen in Gebieten mit intensiver Übertragung hervorgerufen. Somit wird das Repertoire an immunologischen Erkennungs- und Abwehrmechanismen allmählich erweitert und bietet vor allem älteren Kinder und Erwachsenen einen partiellen Schutz. Allerdings ist zur Aufrechterhaltung eben dieser Semi-Immunität eine fortgesetzte Exposition notwendig. Der Antikörpertiter gegen die Gesamt-Blutstadien-Antigene von *P. falciparum* gilt als Ausdruck der Intensität und Dauer stattgehabter Exposition (Bruce-Chwatt *et al.*, 1972; Kamol-Ratanakul *et al.*, 1992). Dementsprechend ist in endemischen Gebieten ein altersabhängiger Anstieg eben dieses Titers bis zum Erreichen eines Plateaus im Alter von ca. fünf Jahren zu verzeichnen. Dieser Titer korreliert allerdings nur wenig mit den Parasitendichten infizierter Patienten und ist somit nicht Ausdruck individueller protektiver Immunität (Marsh *et al.*, 1989; Archibald *et al.*, 1990; Tshefu & James, 1995). Bis zum heutigen Tage wurden verschiedene Antikörper identifiziert, die einen teilweisen Schutz gegenüber einer manifesten Malaria bieten (Marsh *et al.*, 1989; van Schravendijk *et al.*, 1991; Kamol-Ratanakul *et al.*, 1992; Tshefu & James, 1995; Bull *et al.*, 1999; Dodoo *et al.*, 2000). Nach allgemeiner Lehrmeinung vermitteln die passiv via Plazenta übertragenen mütterlichen Antikörper in den ersten Lebensmonaten einen partiellen Schutz gegenüber einer Malaria (Übersichten in Lingelbach, 1994; Hogh, 1996). Die Meinungen über das Ausmaß dieses Schutzes und die Art der schützenden Antikörper gehen jedoch sehr weit auseinander (Hogh *et al.*, 1995; Achidi *et al.*, 1996; Kitua *et al.*, 1996; Branch *et al.*, 1998).

Auch unspezifische Abwehrmechanismen spielen eine wichtige Rolle: Durch die Aktivierung phagozytischer Zellen werden Sauerstoffradikale (Nalae & Friedman, 1988) und Stickoxid (Rockett *et al.*, 1992) freigesetzt, die Parasiten abtöten können. Die Sauerstoffintermediate wiederum bilden gemeinsam mit Lipoproteinen Lipidperoxide (Rockett *et al.*, 1988). Die Eliminierung Parasiten-befallener Erythrozyten durch die Milz ist sowohl durch eine verstärkte Filtration (Looareesuwan *et al.*, 1987) als auch eine Fc-Rezeptor-vermittelte Phagozytose (Lee *et al.*, 1989; Ho *et al.*, 1990) gekennzeichnet. Die sowohl wirts- als auch parasitenspezifische Neoantigene auf ihrer Oberfläche tragenden infizierten Erythrozyten werden stärker opsoniert und somit für Abwehrzellen leichter angreifbar gemacht (Lee *et al.*, 1982; Cranston *et al.*, 1984). Allerdings unterliegen die exprimierten Parasitenproteine umfangreicher antigener Varianz (Anders, 1986; Marsh & Howard, 1986; Hommel & Semoff, 1988; Kemp *et al.*, 1990), was wahrscheinlich eine vollständige Eliminierung befallener Erythrozyten durch das Immunsystem verhindert und somit ein Fortbestehen intraerythrozytärer Parasiten sichert.

1.1.4. Malaria im ersten Lebensjahr

Neugeborene besitzen, im Vergleich zu älteren Kindern, einen relativen Schutz gegenüber einer milden klinischen (Brabin, 1990), wie auch schweren Malaria (Snow *et al.*, 1998). In den ersten Lebensmonaten treten zwar *P. falciparum*-Infektionen auf, eine klinische Manifestation ist jedoch nur sehr selten zu beobachten. Verschiedene Faktoren haben einen Einfluss auf eben dieses Phänomen. Vor allem die transplazentar übertragenen mütterlichen IgG-Antikörper stellen bei Neugeborenen in hochendemischen Gebieten den wichtigsten Schutzfaktor dar (Edozian *et al.*, 1962; McGregor, 1986; Carlier & Truyens, 1995). Auch der die Parasitenvermehrung hemmende Effekt des initial persistierenden HbF (fetales Hämoglobin) (Pasvol & Wilson, 1982), das durch ausschließliches Stillen hervorgerufene p-Aminobenzoe-Säure-Defizit (Maegraith *et al.*, 1952; Jacobs, 1964) und die transplazentare Übertragung von Malariamedikamenten von der Mutter auf das Kind (Mutabingwa *et al.*, 1994) üben einen protektiven Effekt gegenüber der Manifestation einer Malaria aus. Dieser hält jedoch nicht sehr lange an, da die mütterlichen Antikörper und das HbF nach etwa 18 Wochen auf minimale, nicht mehr schützende Konzentrationen absinken (Achidi *et al.*, 1995). Neugeborene, deren Mütter während der Schwangerschaft an Malaria erkrankt waren, sind bei Geburt häufig anämisch (Reed *et al.*, 1994) und neigen während ihrer Kindheit verstärkt zu Anämie (Cornet *et al.*, 1998) und Malaria (Le Hesran *et al.*, 1997).

In Gebieten intensiver Malariaübertragung steigen die *P. falciparum*-Prävalenz und Parasitendichte nach der Geburt bis zum Ende des ersten Lebensjahres hin an (Kitua *et al.*, 1996; Bloland *et al.*, 1999). Eine klinische Malaria tritt selten vor dem dritten Lebensmonat in Erscheinung, erreicht ihr Häufigkeitsmaximum im 6. Lebensmonat und wird danach wieder seltener (Snow *et al.*, 1998). Auch in einer Studie von Bloland *et al.* (1999) manifestierte sie sich vor allem in der zweiten Hälfte des ersten Lebensjahres. Lebensbedrohliche *P. falciparum*-Infektionen treten vor allem in der zweiten Hälfte des ersten Lebensjahres in Gebieten mit hoher Malariaübertragung auf (McDonald, 1950; Colbourne & Edington, 1954; Baird *et al.*, 1993). Sie manifestieren sich in diesem Alter zumeist in Form schwerer Anämien (Marsh, 1992). Mit zunehmendem Lebensalter (> 1. Lebensjahr) nehmen sowohl die Parasitendichten als auch die Inzidenz der klinischen Malaria in Malaria-Endemiegebieten langsam ab. Die Infektionsrate allerdings bleibt bis ins Erwachsenenalter hinein hoch (Petersen *et al.*, 1991). So bildet sich langsam bis zum Erreichen des Erwachsenenalters eine klinische Immunität heraus, die vor manifester Erkrankung, jedoch nicht vor Infektion mit Plasmodien schützt (Rogier *et al.*, 1995). Im Erwachsenenalter bestehen dauerhaft niedrige Parasitämien, jedoch keine völlige Plasmodien-Eradikation (Trape *et al.*, 1994).

1.1.5. Malaria und Anämie

Die Anämie stellt eines der größten Probleme des öffentlichen Gesundheitssystems in Malaria-Endemiegebieten Afrikas dar. Ihre Prävalenz schwankt zwischen 31 % und 90 % bei Kindern (Bradley-Moore *et al.*, 1985; Premji *et al.*, 1995). Eine *P. falciparum*-Infektion ist dort die häufigste Ursache schwerer Anämie unter Schwangeren und Kindern (Brabin *et al.*, 1991; Newton *et al.*, 1997) und führt oft zum Tode (Brabin *et al.*, 2001). Malaria-assoziierte Anämien fordern nach neueren Schätzungen etwa 190 000-974 000 Todesopfer pro Jahr unter den Kindern, die das fünfte Lebensjahr noch nicht vollendet haben (Murphy *et al.*, 2001).

Zudem können Eisenmangel und/oder moderate Anämien sowohl die kognitive- und motorische Entwicklung (Lozoff *et al.*, 2000; Grantham *et al.*, 2001; Sherriff *et al.*, 2001), als auch das Wachstum der Kinder (Lawless *et al.*, 1994) behindern und die Immunfunktion (Oppenheimer *et al.*, 2001) und Körperkraft (Haas *et al.*, 2001) beeinträchtigen. Auf Grund ihrer unspektakulären Manifestation bleibt eine moderate Anämie oft unentdeckt und demzufolge auch unbehandelt (Phillips *et al.*, 2003; Schellenberg *et al.*, 2003).

Der Nachweis von Plasmodien im Blut entspricht nicht zwingend der Ursache einer Anämie im Kindesalter. Unterernährung, Hakenwurmbefall, Eisen- und Folatmangel, aber auch hereditäre Anämien sind in diesem Alter weitere häufige Risikofaktoren (Übersichten in Phillips & Pasvol, 1992; Bienzle *et al.*, 1996; Bears, 1997; Crawley *et al.*, 2004). Auch asymptomatische Parasitämien können ursächlich für lebensbedrohliche Anämien sein. Sie treten besonders häufig nach einer unvollständigen Chemotherapie auf (Schapira *et al.*, 1993).

Die Pathogenese der Malaria-assoziierten Anämie ist multifaktoriell (Zuckerman, 1966; Perrin *et al.*, 1982). Man unterscheidet zwei Mechanismen (Crawley *et al.*, 2004):

1. Verstärkte Erythrozytenzerstörung: Ein wesentlicher Mechanismus der Anämiegenese ist die Ruptur Parasiten-befallener Erythrozyten (Phillips *et al.*, 1986; Warrell *et al.*, 1990; Phillips *et al.*, 1992). Demgegenüber entstehen persistierende und schwere Anämien noch Wochen nach der Parasiteneliminierung durch die Phagozytose vor allem nicht-infizierter Erythrozyten im Rahmen einer verstärkten Aktivierung des retikuloendothelialen Systems. Dieser Zusammenhang könnte die z.T. zu beobachtende, mangelnde Korrelation der Parasitämie und der Schwere der Anämie erklären (Phillips *et al.*, 1986; Davis *et al.*, 1990; Phillips *et al.*, 1992; Slutsker *et al.*, 1994; Bojang *et al.*, 1997; Dondorp *et al.*, 1999; Schellenberg *et al.*, 1999). Auch die übermäßige Filtration infizierter Erythrozyten im Rahmen des Hypersplenismus, trägt zu einer frühzeitigen Anämie bei akuter Malaria bei. Die Rolle der Autoimmunhämolyse ist noch umstritten. Der während oder im Anschluss an eine akute *P. falciparum*-Infektion meist positive direkte Coombs-Antikörpertest lässt auf eine Beteiligung dieser Autoimmunhämolyse schließen. Seine

mangelnde Spezifität und Reaktion auf schon geringste IgG-Spiegel stellen seine Aussagekraft allerdings in Frage. Außerdem konnte keine Korrelation zwischen der Schwere oder Persistenz der Anämie und diesem Antikörpertest festgestellt werden (Phillips *et al.*, 1992).

2. Reduzierte Erythrozytensynthese: Die erythroide Hypoplasie wird durch eine vorübergehende Hemmung der Erythropoetin (EPO)-Antwort im Verlauf einer akuten Malaria hervorgerufen, was zu einer verzögerten Freisetzung von Retikulozyten führt (Phillips *et al.*, 1986; Warrell *et al.*, 1990). Diese Suppression der EPO-Synthese bei erwachsenen Malariakranken wird wahrscheinlich durch Entzündungsmediatoren wie TNF (Tumornekrosefaktor) gefördert (Clark *et al.*, 1988). Gerade bei Patienten mit wiederkehrenden *P. falciparum*-Infektionen wird sehr häufig eine Dyserythropoese vorgefunden, die noch Tage bis Wochen nach einer akuten Malaria persistieren kann. Veränderte Serumspiegel an TNF, IL-10 (Interleukin 10) und INF- γ (Interferon- γ) tragen maßgeblich zur Entstehung der Anämie, vor allem im Kindesalter, bei (Warrell *et al.*, 1990; McGuire *et al.*, 1999; Othoro *et al.*, 1999). TNF- α , IFN- γ und NO (Stickoxid) begünstigen eine Malaria-assoziierte Anämie über Knochenmarksdepression, Dyserythropoese und Erythrophagozytose (Clark *et al.*, 1988; Anstey *et al.*, 1999). Verschiedene Promoterpolymorphismen des TNF- α -Gens sind, wahrscheinlich über eine erhöhte TNF- α -Produktion, mit einer schweren Malaria-Anämie verbunden (McGuire *et al.*, 1999; Aidoo *et al.*, 2001). Demgegenüber ist die Rolle des IL-10-Spiegels bei der Anämiegenese unklar. Der Großteil der Studien geht jedoch von einem niedrigen IL-10-Plasmaspiegel oder einer niedrigen IL-10/TNF- α -Plasmaratio (niedrige IL-10-Spiegel zu vergleichsweise hohen TNF- α -Spiegeln) als Risikofaktoren für eine schwere Malaria-Anämie aus (Kurtzhals *et al.*, 1998; Othoro *et al.*, 1999; May *et al.*, 2000; Lyke *et al.*, 2004). Die im Gefolge einer Plasmodien-Infektion auftretende Hemmung des Immunsystems begünstigt Begleitinfektionen, die vor allem bei Kindern zur Anämiegenese beitragen. In diesem Zusammenhang konnten verschiedene Erreger identifiziert werden (Warrell *et al.*, 1990; Phillips *et al.*, 1992; Yeats *et al.*, 1999).

1.1.6. Malariahypothese: natürliche Selektion von Polymorphismen durch Malaria

Die Erkenntnis, dass Infektionskrankheiten einen wesentlichen Einfluss auf die Diversität des menschlichen Genoms haben, ist nicht neu. Schon A.E. Garrod beschrieb 1931 in seinem Buch „The inborn factors in disease“ den durch Infektionskrankheiten hervorgerufenen Selektionsdruck als wichtigen Einfluss auf die menschliche Evolution.

Es wurden verschiedene Varianten des menschlichen Genoms entdeckt, die mit einer verminderten Schwere und Inzidenz der Malaria verbunden sind. Da die Genvarianten fast

ausschließlich in hochendemischen Malariagebieten anzutreffen sind, ist eine durch diese Infektionskrankheit verursachte positive Selektion sehr wahrscheinlich. So postulierte J.B.S. Haldane schon 1948 einen Selektionsvorteil heterozygoter Träger der Thalassämie bei Malaria. Der protektive Einfluss des Sichelzell-Gens wurde erstmals 1964 beschrieben (Allison *et al.*, 1964) und später auch belegt (Hill *et al.*, 1991; Olumese *et al.*, 1997). Weitere Faktoren mit einem nachweislich schützenden Einfluss sind der G-6-PDH (Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase)-Mangel (Ruwende *et al.*, 1995), verschiedene Polymorphismen des HLA-DR (humanes Leukozyten-Antigen)-Systems (Hill *et al.*, 1991; 1992), die melanesischen Ovalozytose, die mutierte Form des Gens *NOS2* (Hobbs *et al.*, 2002) und *IFNR1* (Interferon- α -Rezeptor-1)-Varianten (Aucan *et al.*, 2003). Auch Promoterpolymorphismen des IL-10- und des TNF- α -Gens könnten die Manifestation einer Malaria beeinflussen. Bis zum heutigen Tage konnte aber noch kein Zusammenhang zwischen den IL-10 -1082G/A-Promoterallelen und der Schwere der Manifestation einer Malaria nachgewiesen werden (Ohashi *et al.*, 2002).

1.2. Interleukin 10 und Tumornekrosefaktor alpha

Das antiinflammatorische Zytokin IL-10 und das proinflammatorische Zytokin TNF- α weisen komplexe, einander entgegengesetzte Effekte auf (Makhatadze, 1998; Moore *et al.*, 2001). Es besteht ein autoregulatorischer Kreislauf, in dem TNF- α die Ausschüttung von IL-10 stimuliert und IL-10 die Produktion von TNF- α drosselt (Lio *et al.*, 2001; Candore *et al.*, 2002).

1.2.1. Bedeutung und Funktion des Interleukin 10

Das Th-2-Zytokin IL-10 wird auf Grund seiner Fähigkeit, die Zytokinsekretion vom Th-1 Typ (T-Helfer-Typ 1) zu hemmen, auch als CSIF (Cytokine synthesis inhibitory factor) bezeichnet (Fiorentino *et al.*, 1989). Es wird von T-Zellen, B-Zellen und Makrophagen produziert (Moore *et al.*, 1993) und moduliert die Zytokinproduktion und Aktivität verschiedener Zellgruppen:

Von besonderer Bedeutung ist seine antiinflammatorische Wirkung. So hemmt IL-10 die Aktivität von Monozyten und Makrophagen, was zu einer verminderten Bildung proinflammatorischer Mediatoren und somit zu einer reduzierten T-Zell-Stimulation führt (de Waal Malefyt *et al.*, 1991; Peguet-Navarro *et al.*, 1994). Verschiedene Studien haben bereits den Einfluss des IL-10 auf menschliche Erkrankungen mit vor allem immunologischer Komponente oder Ätiologie nachgewiesen. So konnte bei akut- oder chronisch-entzündlichen Erkrankungen, Krebs, Transplantationen und Autoimmunerkrankungen ein Zusammenhang gefunden werden (Howard *et al.*, 1993; Tumpey *et al.*, 1994; Arai *et al.*, 1995; Rosenbaum *et al.*,

1995; Shanley *et al.*, 1995; Standiford *et al.*, 1995; Van Laethem *et al.*, 1995; Mulligan *et al.*, 1997; Woiciechowsky *et al.*, 1998; Bethea *et al.*, 1999; Moore *et al.*, 2001).

Des Weiteren besitzt IL-10 auch eine immunstimulierende Komponente. So bewirkt es an aktivierten menschlichen B-Zellen eine verstärkte Proliferation als auch Differenzierung zu Antikörper-seziernden Plasmazellen, die große Mengen an IgM, IgG und IgA produzieren (Defrance *et al.*, 1992; Rousset *et al.*, 1992). Zudem wurde ein stimulierender Effekt auf verschiedene weitere Zelltypen wie murine Thymozyten (Suda *et al.*, 1990), menschliche CD8+ T-Zellen (Groux *et al.*, 1998) und murine Mastzellen (Thompson-Snipes *et al.*, 1991) festgestellt. IL-10 induziert außerdem die Differenzierung von Tr1 (regulatory T)-Zellen, welche immun-suppressive Fähigkeiten besitzen und die Entstehung Th1-kontrollierter Autoimmunkrankheiten verhindern können (Groux *et al.*, 1997; Cottrez *et al.*, 2000; McGuirk *et al.*, 2002).

1.2.2. Promoterpolymorphismen des Interleukin 10

Das Gen des antiinflammatorischen Zytokins IL-10 befindet sich auf Chromosom 1 (Kim *et al.*, 1992) und besitzt vier Exons (Benjamin *et al.*, 1992). Da bei eineiigen Zwillingen eine höhere Korrelation in der IL-10-Produktionskapazität als bei Verwandten ersten Grades festgestellt wurde (Westendorp *et al.*, 1997), ist anzunehmen, dass die Höhe des IL-10-Plasmaspiegels genetisch kontrolliert wird. Dies könnte durch genetische Varianten in der Promoterregion des IL-10-Gens hervorgerufen werden. Bis zum heutigen Tage wurden verschiedene SNPs (single nucleotide polymorphisms) der Promoterregion des IL-10-Gens entdeckt (Eskdale *et al.*, 1997; Turner *et al.*, 1997). Vor allem der -1082G/A-Promoterpolymorphismus ist mit einer Modulation der IL-10-Produktion verbunden (Turner *et al.*, 1997; Eskdale *et al.*, 1999). Die von Turner *et al.* (1997) aufgestellte Hypothese, dass das -1082A-Allel mit einer verminderten IL-10-Produktion einhergeht, wurde auch in verschiedenen neueren Studien vorausgesetzt (Koss *et al.*, 2000; Schaaf *et al.*, 2003). In der Studie von Eskdale *et al.* (1999) wurden allerdings höhere IL-10-Spiegel in Anwesenheit des -1082A-Allels gemessen. Diese Diskrepanz der beiden Studien ist wahrscheinlich durch einen unterschiedlichen Experimentaufbau zu erklären.

1.2.3. Malaria und Interleukin 10

Das antiinflammatorische IL-10 hemmt bei einer *P. falciparum*-Infektion die Produktion proinflammatorischer, an der Pathogenese der Malaria beteiligter Zytokine, wie TNF- α und IL-1. In verschiedenen Studien konnte nachgewiesen werden, dass sowohl ein niedriger IL-10-Plasmaspiegel, als auch eine niedrige IL-10/TNF- α -Plasmaratio mit dem Auftreten vor allem schwerer Malaria-Anämien verbunden sind (Kurtzhals *et al.*, 1998; Othoro *et al.*, 1999; May *et*

al., 2000; Lyke *et al.*, 2004). Demgegenüber wurden signifikant erhöhte IL-10-Spiegel oder IL-10/TNF-Plasmaratios bei afrikanischen Kindern mit milder Malaria gefunden (Othoro *et al.*, 1999; Hermsen *et al.*, 2003). Weiterhin korrelierte die IL-10-Konzentration mit der Schwere der Erkrankung (Hermsen *et al.*, 2003). Auch eine zerebrale Malaria trat meist im Zusammenhang mit hohen IL-10-Spiegeln auf (Kurtzhals *et al.*, 1998; Othoro *et al.*, 1999; Lyke *et al.*, 2004), obwohl auch schon niedrige IL-10/TNF-Plasmaratios bei zerebraler Malaria gemessen wurden (May *et al.*, 2000). Des Weiteren wurden bei höchsten Parasitendichten oft hohe IL-10-Spiegel bzw. hohe IL-10/TNF-Ratios gefunden (Day *et al.*, 1999; Othoro *et al.*, 1999; May *et al.*, 2000). In der einzigen, bisher existenten Studie, die den Zusammenhang des IL-10 -1082G/A-Promoterpolymorphismus und der Malaria untersuchte, konnte allerdings keine Korrelation mit einer schweren Malaria festgestellt werden (Ohashi *et al.*, 2002).

1.2.4. Promoterpolymorphismen des Tumornekrosefaktor alpha

Das TNF- α -Gen liegt auf Chromosom 6 zwischen den für die HLA-Moleküle der Klasse I und II kodierenden Gensequenzen. Bis zum heutigen Tage konnten zehn Einzelpolymorphismen der Promoterregion (G zu A-Transition) nachgewiesen werden, von denen drei als relevant für die Manifestation einer Malaria gelten: -238G/A, -308G/A und -376G/A. Es gibt unterschiedliche Studienergebnisse darüber, wie SNPs innerhalb der TNF-Promoterregion die transkriptionale Aktivität des Gens beeinflussen (Pociot *et al.*, 1995; Wilson *et al.*, 1997; Knight *et al.*, 1999). Die meisten Studien gehen von einer erhöhten TNF- α -Produktion des -308A-Allels aus (Wilson *et al.*, 1997; Abraham *et al.*, 1999; Aidoo *et al.*, 2001; Aguilon *et al.*, 2002; Mombo *et al.*, 2003), obwohl in anderen Studien ein solcher Zusammenhang nicht erkannt wurde (Brinkmann *et al.*, 1995; de Jong *et al.*, 2002).

Weiterhin existieren zahlreiche, zum Teil widersprüchliche Aussagen über eine Korrelation des -308G/A-Promoterpolymorphismus zur Malaria: Bisher wurde weder eine statistisch-signifikante Assoziation des A-Allels zu einer *P. falciparum*-Infektion (Mombo *et al.*, 2003), noch zur Höhe der Parasitendichte hergestellt. Jedoch beobachteten andere Studien einen nicht-signifikanten Trend (Stirnadel *et al.*, 1999; Parikh *et al.*, 2004) oder eine nur grenzwertig signifikante Assoziation des A-Allels mit Hyperparasitämien (Aidoo *et al.*, 2001). Auch zur klinischen Manifestation der Malaria in Verbindung mit dem A-Allel bestehen widersprüchliche Ergebnisse. Keine Assoziation fanden Parikh *et al.* (2004). Demgegenüber wies die Studie von Meyer *et al.* (2002) eine Assoziation des -308A-Allels mit einer schnelleren Reinfektion symptomatischer Malaria nach. Das TNF- α -308A-Allel wurde als Risikofaktor für zerebrale und tödlich verlaufende Malaria identifiziert (Wilson *et al.*, 1997; McGuire *et al.*, 1999; Aidoo *et al.*,

2001; Aguillon *et al.*, 2002) und vermehrt bei geringgewichtigen Neugeborenen mit schweren Anämien nachgewiesen (Aidoo *et al.*, 2001), obwohl andere Studien keine Verbindung zur schweren Anämie fanden (McGuire *et al.*, 1999). Für das Verständnis der mannigfaltigen, sich teilweise widersprechenden Ergebnisse all dieser Studien könnte die Tatsache von Bedeutung sein, dass Verteilungsungleichgewichte einerseits mit den einzelnen Promoterpolymorphismen, die teilweise nur in Verbindung miteinander auftreten (TNF- α -238A und -376A, TNF- α -376A und -308A) und andererseits mit HLA-Varianten, existieren (Wilson *et al.*, 1997; Abraham *et al.*, 1999 ; Knight *et al.*, 1999; McGuire *et al.*, 1999; May *et al.*, 2000; de Jong *et al.*, 2002).

1.2.5. Malaria und Tumornekrosefaktor alpha

Das proinflammatorische Zytokin TNF- α hat, je nach Höhe seines Spiegels im Blut, unterschiedlichen Einfluss auf den Verlauf einer *P. falciparum*-Malaria. Während moderate TNF-Spiegel einen antiparasitären Effekt aufweisen (Rockett *et al.*, 1992) und eine hohe TNF-Produktionskapazität mit einer beschleunigten Parasitenelimination einhergeht (Kremsner *et al.*, 1995; Mordmüller *et al.*, 1997), wurden unverhältnismäßig hohe TNF-Plasmaspiegel häufig bei Patienten mit schweren Komplikationen wie schwerer Malaria-Anämie, zerebraler Malaria, Koma und Tod beobachtet (Grau *et al.*, 1989). Der wichtigste Stimulus für die TNF-Produktion ist die Ruptur Parasiten-befallener Erythrozyten (im Schizontenstadium) und die nachfolgende Freigabe deren Inhalts (Kwiatkowski *et al.*, 1989; Karunaweera *et al.*, 1992). Allerdings induzieren lysierte, befallene Erythrozyten, im Vergleich zu nicht-lysierten, nur sehr geringe TNF-Spiegel (Rowe *et al.*, 1998; Scragg *et al.*, 1999).

Viele Studien stellten eine Assoziation zwischen dem TNF- α -308A-Allel oder erhöhten TNF- α -Plasmaspiegeln und einer schweren Malaria her (Mordmüller *et al.*, 1997; Wilson *et al.*, 1997; McGuire *et al.*, 1999; Singh *et al.*, 2000; Aidoo *et al.*, 2001; Aguillon *et al.*, 2002; el-Nashar *et al.*, 2002; Gourley *et al.*, 2002; Manish *et al.*, 2003; Lyke *et al.*, 2004). Außerdem wurden hohe TNF-Plasmaspiegel (in Kombination mit niedrigen IL-10-Spiegeln) häufig bei Patienten mit schwerer Malaria-Anämie beobachtet (Grau *et al.*, 1989; Kurtzhals *et al.*, 1998; Othoro *et al.*, 1999; May *et al.*, 2000). Eine negative Korrelation des Hämoglobingehaltes und der Höhe des TNF- α -Plasmaspiegels bei Malaria wiesen Nussenblatt *et al.* (2001) nach.

1.3. Malaria und sozioökonomische Faktoren

Sozioökonomische Faktoren üben einen großen Einfluss auf das Auftreten der Malaria aus. So stellten schon Mackinnon *et al.* (2000; 2005) fest, dass sie, zusammen mit genetischen Faktoren, sowohl die *P. falciparum*-Infektion, als auch eine leichte und schwere klinische Manifestation

1. EINLEITUNG

der Malaria beeinflussen. Wichtige Faktoren stellen das Einkommen und die Bildung der Familie, die Wohnsituation, die Anwendung von Bettnetzen und Insektensprays/-spiralen (Dale *et al.*, 2005) und der Wohnort (Pichainarong *et al.*, 2004) dar. So ist das Wohnen im Regenwald oder ländlichen Gebieten mit mehr *P. falciparum*-Infektionen verbunden (Mackinnon *et al.*, 2000; Pichainarong *et al.*, 2004). Auch der Moskitoschutz ist sehr wichtig. Vor allem imprägnierte Bettnetze schützen signifikant vor Plasmodien-Infektionen und der klinischen Manifestation der Malaria (Abdulla *et al.*, 2001; Ansari *et al.*, 2003; Erlanger *et al.*, 2004; Lengeler *et al.*, 2004; Abdulla *et al.*, 2005) und bieten einen stärkeren Schutz als unbehandelte Netze (Marchant *et al.*, 2001). Nicht-imprägnierte Bettnetze in gutem Zustand sollen auch einen gewissen Schutz vor Infektion oder klinischer Manifestation gewährleisten (Mwangi *et al.*, 2003), obwohl dies in anderen Studien nicht bestätigt werden konnte (Genton *et al.*, 1994; Snow *et al.*, 1998; Nacher *et al.*, 2001; Abdulla *et al.*, 2005). Leider ist die Anwendung von Netzen oder anderen Schutzfaktoren von den finanziellen Mitteln der Familie abhängig, so dass sich vor allem wohlhabendere Familien effizient gegen Moskitos schützen (Abdulla *et al.*, 2001; Fawole *et al.*, 2001; Howard *et al.*, 2003). Der Kenntnisstand zur Malaria ist in weiten Bevölkerungsteilen Afrikas unzureichend. So spielt die Selbstmedikation der Kinder mit einer im Dorfladen erworbenen Kombination aus Antipyretika, Antibiotika und Malariamedikamenten vor Aufsuchen des Krankenhauses eine große Rolle (Olaogun *et al.*, 2005). Dies kann, wie in Ghana schon geschehen, zu Medikamentenresistenzen und einer mangelhaften Ausbildung der Immunabwehr der Kinder führen. Eine Selbstmedikation wird meist von ungebildeteren, ärmeren Bevölkerungsanteilen durchgeführt (Biritwum & Welbeck, 2000). Auch traditionelle Behandlungsformen und Aberglaube in Bezug auf die Krankheitsgenese spielen eine wichtige Rolle (Mwenesi *et al.*, 1995; Jones *et al.*, 2004; Nkuo Akenji *et al.*, 2005). Kinder von Analphabetinnen oder Müttern ohne formalen Schulabschluss infizieren sich signifikant häufiger (Mwangi *et al.*, 2003) und weisen eine höhere Malaria-Morbidität und -Mortalität auf, als Kinder gebildeterer Mütter (Kuate Defo *et al.*, 1997; Abdulla *et al.*, 2005). Da Frauen bei der Krankheitsprävention in der Familie und Gemeinschaft eine zentrale Rolle spielen (A/Rahman *et al.*, 1996; Rodriguez *et al.*, 2003) und durch den engen Kontakt zu ihren Kindern als Erste eine Erkrankung des Kindes feststellen (Sims *et al.*, 1992), ist die Malaria-Aufklärung gerade der Mütter von großer Bedeutung. So wurde in anderen Studien nach eben einer solchen Aufklärung und der Bereitstellung von Behandlungsmöglichkeiten ein signifikanter Rückgang der Prävalenz von Parasiten, Fieber, Splenomegalie und schwerer Malaria-Anämie ihrer Kinder beobachtet (Nkuo *et al.*, 2005). Auch Naturmedizin wurde nun seltener verwendet (Alaii *et al.*, 2003).

1.4. Zielsetzung dieser Arbeit

Das Wechselspiel bestimmter Risiko- als auch Schutzfaktoren hinsichtlich der Malaria ist komplex und wird durch regionale Unterschiede in der Epidemiologie der Malaria, dem daraus resultierenden Immunitätsstatus, regionalen Unterschieden in der Häufigkeit disponierender oder protektiver genetischer Varianten und letztlich variabler sozioökonomischer Faktoren zusätzlich beeinflusst. Mackinnon *et al.* (2000; 2005) stellten erstmals den Einfluss genetischer und nicht-genetischer Faktoren auf die Infektion und Manifestation der Malaria vergleichend dar. In der in Kenia durchgeführten Studie wurden genetische und sozioökonomische Faktoren für jeweils rund ein Viertel der Varianz der Malaria-Inzidenz bei Kindern verantwortlich gemacht (Mackinnon *et al.*, 2005). Inwieweit dies für andere Regionen Afrikas zutrifft, ist unklar. Der Effekt einer genetischen Disposition auf die Malaria tritt insbesondere bei nicht-immunen Menschen auf. Da dies in Holoendemiegebieten vor allem Säuglinge nach Rückgang des Nestschutzes sind, wählten wir als Untersuchungszeitraum das erste Lebensjahr.

Aus ähnlichen Vorarbeiten ergeben sich Hinweise auf einen hinsichtlich der Malaria disponierenden Effekt der TNF- α -Promotervariante -308A und auf eine eher protektive Wirkung des IL-10. Allerdings sind die Befunde zur TNF- α -Promotervariante widersprüchlich. Ein protektiver Einfluss der IL-10 -1082A-Promotermutation auf die Malaria tropica konnte bislang nicht nachgewiesen werden. Die hohen Genfrequenzen beider Promotermutationen in einem holoendemischen Gebiet lassen einen Einfluss auf die Malaria vermuten.

In einer Kohortenstudie bei 140 Neugeborenen im holoendemischen Malariagebiet von Agogo, Ghana, sollten die Effekte der beiden genannten genetischen Varianten untersucht und denen sozioökonomischer Faktoren gegenübergestellt werden. Zunächst werden die Basisdaten der 140 Studienkinder bei Geburt und zwischen der 4. und 52. Lebenswoche dargestellt. Dann werden Punktprävalenzen der *P. falciparum*-Infektionen, der klinischen Malaria und des Fiebers in Abhängigkeit von einer Infektion bestimmt und die Höhe der Parasitendichte im Verlauf des ersten Lebensjahres betrachtet. Hämatologische Parameter werden in Abhängigkeit von der Malaria untersucht. Die Frequenzen der beiden Promoterpolymorphismen sowie sozioökonomische Faktoren werden bestimmt und zu den Basisparametern Infektion, Parasitendichte, klinische Malaria und Malaria-Anämie in Bezug gesetzt. Es soll die Frage geklärt werden, ob, in welchem Umfang und in welchem Verhältnis zueinander die Promoterpolymorphismen und sozioökonomische Faktoren die Plasmodien-Infektion, Parasitendichte und Malaria-Manifestation beeinflussen.