

1 Einleitung

Bereits 1931 vermutete Garrod, dass den Menschen befallende Infektionskrankheiten für die Selektion bestimmter Gene in einer Population verantwortlich sein könnten. Damit eine Infektionskrankheit als treibende Kraft der Evolution agieren kann, müssen bestimmte Voraussetzungen erfüllt sein. Die Krankheit sollte häufig sein, mit einer signifikanten Mortalität vor dem fertilen Alter einhergehen oder direkt die Fertilität des Betroffenen einschränken. Die Malaria stellt das bisher bekannteste Beispiel einer solchen, das menschliche Genom formenden Infektionskrankheit dar. Der hohe Selektionsdruck, den die Malaria in Afrika über die letzten 5-10 000 Jahre ausgeübt hat, ist mit großer Wahrscheinlichkeit für die Selektion einer Vielzahl größtenteils noch nicht genau identifizierter Gene in den betroffenen Populationen verantwortlich (Miller *et al.* , 1994). Haldane formulierte 1949 erstmals eine Vermutung, die als Grundlage für das Konzept der Malariahypothese angesehen werden kann:

„The corpuscles of the anaemic [β – thalassaemic] heterozygote are smaller than normal, and more resistant to hypotonic solutions. It is at least conceivable that they are also more resistant to attacks by the sporozoa which cause malaria.“

1.1 Malaria

Mehr als 40% der Weltbevölkerung lebt in Gebieten mit Malariarisiko. Rund 500 Millionen Erkrankungen und mehr als eine Million Todesfälle sind jährlich zu verzeichnen, wobei Kinder unter fünf Jahren die am meisten gefährdete Gruppe darstellen. Die sozialen Folgen und die mit der Erkrankung zusammenhängenden wirtschaftlichen Einbußen für die betroffenen Länder sind erheblich (WHO, 2000).

Der Großteil (90%) der auf Malaria zurückzuführenden Mortalität findet sich auf dem afrikanischen Kontinent südlich der Sahara. Am meisten betroffen sind die ärmsten Bevölkerungsschichten: 58% der Malariafälle treffen die ärmsten 20% der Weltbevölkerung (Bremner *et al.*, 2004). Versuche, die Mortalität und Schwere der Infektionskrankheit durch Entwicklung von Impfstoffen, Strategien zur Vermeidung der Transmission oder durch Vektorkontrolle zu reduzieren, sind bisher nicht zufriedenstellend gelungen. Eine weitere, relativ neue Problematik, ist die zunehmende Resistenz der Erreger gegen bisher verwendete, finanziell erschwingliche Medikamente (Miller & Greenwood, 2002).

1.1.1 Der Malariaerreger

Die Malaria ist eine durch Protozoen verursachte Krankheit, die durch den Stich der weiblichen Stechmücke der Gattung *Anopheles* auf den Menschen übertragen wird. Es gibt vier menschenpathogene Erregertypen: *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* und *P. falciparum*. Die Mücke erhält durch den infizierten Menschen gametozytenhaltiges Blut. Im Magen und der Magenwand der Anophelesmücke vollzieht sich der sexuelle Zyklus (Sporogonie) des Malariaerregers, an dessen Ende Sporozoiten in die Speicheldrüsen der Mücke gelangen und von dort schließlich bei der nächsten Blutmahlzeit in das menschliche Blut. Dieser Zyklus dauert 8-16 Tage und kommt bei Außentemperaturen unter 15°C zum Erliegen. Im Menschen vollzieht sich der asexuelle Zyklus (Schizogonie) des Parasiten. Die Sporozoiten gelangen über das Gefäßsystem in die Leber und dringen in die Leberparenchymzellen ein. Sie reifen zu Schizonten heran, in welchen sich Merozoiten bilden, die in das Blut freigesetzt werden und die Erythrozyten befallen. Einige der Merozoiten entwickeln sich zu Gametozyten. In den Erythrozyten entwickeln sich die Erreger zu Ringformen, Trophozoiten und Schizonten. Im reifen erythrozytären Schizonten bilden sich wiederum Merozoiten. Die Zerstörung des Erythrozyten bewirkt deren Freisetzung; der erythrozytäre Zyklus kann erneut beginnen. Bei den vier menschenpathogenen Plasmodienarten verläuft dieser Zyklus unterschiedlich. Bei einer Infektion mit *P. vivax* und *P. ovale* können Erreger als Hypnozoiten in der Leber verbleiben und Wochen bis Jahre später Merozoiten in die Blutbahn freisetzen. Bei einer Infektion mit *P. falciparum* fehlt die für die anderen Plasmodien charakteristische Synchronisierung der Merozoitenfreisetzung, die der Periodizität der Fieberschübe zugrunde liegt (Bradley, 1990).

1.1.2 Klinik der Malaria tropica

Die Malaria tropica wird durch *P. falciparum* verursacht. Die Infektion mit diesem Erreger verursacht auch schwere und letale Krankheitsverläufe, was für die Erreger *P. vivax*, *P. ovale* und *P. malariae* nicht typisch ist. Der Erkrankungsbeginn manifestiert sich mit einer unspezifischen Symptomatik, die mit Fieber, Schüttelfrost und Gliederschmerzen einer Grippe ähnelt. Bei semi-immunen Individuen kann diese Symptomatik kombiniert mit einer leichten Anämie die einzige klinische Manifestation der Infektion sein. Besteht die Infektion über einen längeren Zeitraum, wie es bei nicht vorhandener oder sich im Entwicklungsprozess befindlicher Semi-Immunität in der Regel der Fall ist, kommt es ohne Therapie im Verlauf zu einer ausgeprägten Anämie und zu Hepatosplenomegalie. Abdominale Beschwerden, Diarrhöen, Erbrechen, Fieberkrämpfe und auch eine pulmonale Symptomatik sind vor allem

bei Kindern mögliche Erscheinungsbilder der Krankheit. Eine schwere und häufig letal verlaufende Komplikation der Malaria tropica ist die zerebrale Malaria. Sie ist gekennzeichnet durch unterschiedliche Formen von Krampfanfällen und Koma. Schwerste Anämie ist häufig bei Kindern die Manifestationsform einer lebensbedrohlichen Infektion. Aber auch Hypoglykämie, Kreislaufversagen mit Schock, Azidose und Dehydrierung, Lungenödem, Spontanblutungen und seltener akutes Nierenversagen sind Symptome einer schweren Verlaufsform (Gilles, 1991).

Die bei einer Infektion mit *P. falciparum* auftretende Anämie ist multifaktoriell bedingt. Alter des Patienten, Immunstatus, genetische Disposition und Ernährungszustand, insbesondere Eisen- und Folsäurestoffwechsel, sind Einflussgrößen, die Art und Ausprägungsgrad der Anämie mitbestimmen. Befallene Erythrozyten rupturieren oder werden phagozytiert; aber auch nicht infizierte Erythrozyten unterliegen einem verstärkten Abbau durch Phagozytose. Die Hämolyse wird begleitet von einer erhöhten Erythrozytenelimination in der Milz. Zusätzlich besteht eine Knochenmarksdysfunktion mit Dyserythropoese. Sie kann, auch nach regelrecht behandelter Infektion, mehrere Wochen anhalten (Phillips, 1992; Menendez, 2000).

1.1.3 Die Entwicklung einer Immunität

Die Malaria ist in Endemiegebieten mit stabiler Transmission bei Betroffenen im Erwachsenenalter eher eine chronische, asymptomatische Infektion denn eine akute Erkrankung (Bottius *et al.*, 1996). In einer viermonatigen Studie in Senegal wurde dokumentiert, dass 98,6% der Bevölkerung des Dorfes Dielmo mindestens einmal mit *P. falciparum* infiziert waren. Die Inzidenzrate der klinischen Malariaanfalle war bei Kindern bis zum vierten Lebensjahr vierzigmal höher als bei Erwachsenen, die das vierzigste Lebensjahr überschritten hatten (Trape *et al.*, 1994). Bei Neugeborenen in Endemiegebieten schützen mütterliche Antikörper vor einer klinischen Erkrankung (Hogh *et al.*, 1995); des weiteren wirkt der hohe Gehalt von fetalem Hämoglobin protektiv (Pasvol, 1976, 1977). So erkrankten Kinder in der Altersgruppe von bis zu sechs Monaten selten an einer Malaria (Brabin, 1990). Aufgrund noch nicht effizient arbeitender Immunmechanismen sind im Alter von ein bis fünf Jahren Morbidität und Mortalität der Malaria am höchsten (Bienzle *et al.*, 1980; Snow *et al.*, 1999). Ältere Kinder erkranken seltener klinisch, auch wenn die Infektionsprävalenz hoch ist (Smith *et al.*, 1999). Diese Beobachtungen lassen sich dadurch erklären, dass die kontinuierliche Auseinandersetzung des Immunsystems mit dem Malariaerreger zur Ausbildung einer partiellen, nicht-sterilen Immunität führt. Hierbei bedingt die hohe Antigenvariabilität des Erregers, dass kein vollkommener Schutz vor Reinfektion erlangt wird. Durch wiederholte Infektion mit verschiedenen Parasitenstämmen wird aber eine

allmähliche Erweiterung des Spektrums immunologischer Abwehrmechanismen erreicht, so dass ein Schutz vor häufiger und schwerer Erkrankung, jedoch nicht vor Infektion besteht (Bull, 1998; Henning *et al.*, 2004). Im Gegenteil: Die chronische Infektion fördert die Aufrechterhaltung einer Semi-Immunität (Al-Yaman *et al.*, 1997; Färnert *et al.*, 1999). Der Begriff der Prämunitio bezeichnet diesen Mechanismus, bei dem kreuzreaktive Immunität zwischen im Organismus tolerierten, persistierenden und neu auftretenden Parasitenstämmen Schutz vor einer klinischen Erkrankung gewährt (Smith *et al.*, 1999).

Die Faktoren, die zur Ausbildung der Immunität führen, sind noch nicht vollständig geklärt. Antikörper gegen verschiedene parasitäre Oberflächenantigene wurden bereits gefunden (Al-Yaman *et al.*, 1997; Bull *et al.*, 1998; Holder *et al.*, 1999). Es wurde gezeigt, dass deren Vorhandensein mit Protektion vor klinischer Erkrankung assoziiert ist (Ofori *et al.*, 2003). Um der Elimination durch die Milzpassage zu entgehen, binden bestimmte parasitäre Oberflächenantigene an verschiedene Rezeptoren des Wirtsorganismus. Bei der Adhäsion kann so, durch die ungleiche Lokalisation der Rezeptoren, ein für diese parasitären Antigene organotypisches Verteilungsmuster entstehen (Newbold *et al.*, 1997; Miller *et al.*, 2002).

1.1.4 Malaria in der Schwangerschaft

In endemischen Malariagebieten haben Frauen in der Schwangerschaft, vor allem Erstschwangere während des zweiten und dritten Trimesters und im Postpartum, ein erhöhtes Risiko einer *P. falciparum*-Infektion sowie ein erhöhtes Erkrankungsrisiko (Diagne *et al.*, 1997; Diagne *et al.*, 2000; Saute *et al.*, 2002; Bouyou-Akotet *et al.*, 2003). Regelmäßig führt die Infektion in der Schwangerschaft zu Anämie (Allen *et al.*, 1998; Mockenhaupt *et al.*, 2000; Rogerson *et al.*, 2000). Die Anämie in der Schwangerschaft führt zu erhöhter Morbidität und Mortalität der Mutter, zu niedrigem Geburtsgewicht und Frühgeburtlichkeit des Neugeborenen (Allen *et al.*, 1998; Lone *et al.*, 2004) und ist zudem mit einer Erhöhung der Kindersterblichkeit im gesamten ersten Lebensjahr (Marchant *et al.*, 2004) assoziiert. Nicht nur über den Umweg der Anämie ist eine Malaria mit niedrigem Geburtsgewicht und Frühgeburtlichkeit assoziiert. Die Infektion mit *P. falciparum*, insbesondere die plazentare Infektion, führt durch intrauterine Wachstumsverzögerung sowie Frühgeburtlichkeit (Ordi *et al.*, 1998; Sullivan *et al.*, 1999; Menezes *et al.*, 2000; Osman *et al.*, 2001; Okoko *et al.*, 2002) zu erniedrigtem Geburtsgewicht des Neugeborenen („LBW“, englisch: Low birth weight) und einer erhöhten Rate an Aborten und Totgeburten. Ein Kind mit niedrigem Geburtsgewicht ist in Afrika einem um das Dreifache erhöhten Mortalitätsrisiko im ersten Lebensjahr ausgesetzt (Guyatt *et al.*, 2001). Der Zeitpunkt einer *P. falciparum*-Infektion während der Schwangerschaft ist bedeutsam für die Auswirkungen auf Mutter und Kind. Infektionen früh

im Verlauf der Schwangerschaft bewirken eher eine intrauterine Wachstumsverzögerung des Feten, wohingegen Infektionen im letzten Drittel der Schwangerschaft mit Frühgeburtlichkeit assoziiert sind (Sullivan *et al.*, 1999). Insgesamt trägt Malaria während der Schwangerschaft in hohem Maße zur peri- und neonatalen Sterblichkeit in Endemiegebieten bei (Steketee, 2001; Guyatt *et al.*, 2004; van Geertruyden *et al.*, 2004). Es wird geschätzt, dass die *P. falciparum*-Infektion in der Schwangerschaft weltweit 75000 bis 200000 Todesfälle bei Säuglingen pro Jahr verursacht (Steketee, 2001).

In besonderem Maße sind Erstschwangere gefährdet. Eine Infektion ist in Hochendemiegebieten bei Primigraviden mit höheren Parasitämien und schwereren Manifestationen der Erkrankung vergesellschaftet als bei Multigraviden (Brabin, 1983; McGregor, 1984; Cot *et al.*, 1993; Steketee, 1996; Mockenhaupt *et al.*, 2000; Bouyou-Akotet *et al.*, 2003). Mütterliche malariaassoziierte Anämie (Matteelli, 1994; Shulman *et al.*, 1996), plazentare Infektion (McGregor, 1983; Desowitz & Alpers, 1992; Ordi *et al.*, 1998; Okoko *et al.*, 2002) und auf Malaria zurückzuführende mütterliche Todesfälle (Granja, 1998) sind bei Primigraviden häufiger. Auch auf die Erniedrigung des Geburtsgewichtes des Neugeborenen wirkt sich die (plazentare) Infektion bei Primigraviden stärker aus als bei den Multigraviden (Brabin, 1983; McGregor, 1983; Verhoeff *et al.*, 1999).

Für die erhöhte Anfälligkeit gegenüber dem Malariaerreger während der Schwangerschaft, insbesondere bei Erstgebärenden, werden verschiedene Mechanismen verantwortlich gemacht. Eine Hypothese besagt, dass der bei Schwangeren relativ höhere Anteil an jungen Erythrozyten ein vermehrtes Parasitenwachstum fördere (Tian *et al.*, 1998). Andere Studien sprechen dafür, dass eine schwangerschaftsspezifische Immunmodulation als Ursache anzusehen ist (Rasheed *et al.*, 1993; Fievet *et al.*, 1995). Ein weiteres Erklärungsmodell geht von der Beobachtung aus, dass infizierte Erythrozyten in der Lage sind, am Synzytiotrophoblasten zu adhären und somit vermehrt in der Plazenta sequestrieren. Die auf der Erythrozytenoberfläche exprimierten parasitären Proteine binden an Chondroitinsulfat A, Liganden die außerhalb der Plazenta nur in geringem Maße vorkommen (Fried & Duffy, 1996). Bestimmte Subpopulationen von *P. falciparum* exprimieren Liganden, die an diese Rezeptoren binden können. Es handelt sich hierbei um Varianten des Plasmodium falciparum Erythrozyte Membrane Proteine 1 (PfEMP1) (Reeder *et al.*, 1999). Diese Stämme von *P. falciparum* wurden fast ausschließlich bei Schwangeren vorgefunden. Die Proteine der PfEMP1-Familie fungieren allgemein als wesentliche Antigene von *P. falciparum*, und gegen verschiedenste Varianten dieses Proteins wurden bereits Antikörper bei semi-immunen Individuen gefunden. Die plazenta-spezifischen Stämme stellen für die Schwangere,

insbesondere während der ersten Schwangerschaft, eine immunologisch noch unbekannte Parasitenpopulation dar. Mit zunehmender Parität erwirbt die Schwangere eine gegen diese in der Plazenta adhärierenden Stämme gerichtete Immunität (Fried, 1998; Maubert *et al.*, 1999; Beeson *et al.*, 2001; Ricke *et al.*, 2000; Khattab *et al.*, 2004). Die Anwesenheit von Antikörpern gegen CSA-bindende Stämme im Plasma schwangerer Frauen ist mit einem höheren Geburtsgewicht des Neugeborenen und auch mit einem höheren Gestationsalter assoziiert (Duffy & Fried, 2003). In Kenia konnte gezeigt werden, dass Frauen mit niedrigen oder nicht vorhandenen Plasmaspiegeln dieser spezifischen Antikörper niedrigere Hämoglobinwerte aufwiesen und leichtere Neugeborene auf die Welt brachten als die Frauen mit höheren Antikörpertitern (Staalsoe *et al.*, 2004).

1.1.5 Plazentare Malaria

Malaria in der Schwangerschaft manifestiert sich häufig als plazentare Malaria. Gekennzeichnet ist diese durch Anwesenheit von Parasiten und/oder Pigment in plazentarem Gewebe und intervillösem Blut. In Hochendemiegebieten findet sich eine Infektion der Plazenta in der Regel auch bei Schwangeren, die im peripheren Blut keine mikroskopisch detektierbare Parasitämie aufweisen (Bulmer, 1993; Leke *et al.*, 1999). In Tansania konnten bei rund der Hälfte aller Frauen mit plazentarer Parasitämie mikroskopisch keine Parasiten im peripher-venösen Blut gefunden werden (Ismail *et al.*, 2000). Im Studiengebiet der vorliegenden Arbeit kamen Mockenhaupt *et al.* (2002) zu ähnlichen Ergebnissen.

Die plazentare Infektion ist primär auf den intervillösen Raum beschränkt. Hier finden sich von Parasiten befallene, sequestrierte Erythrozyten, Leukozyten, Malariapigment, Monozyten und Makrophagen sowie Fibrinablagerungen (Matteelli, 1997; Ordi *et al.*, 1998). Malariapigment, Hämozoin, ist ein Nebenprodukt des Hämoglobinabbaus durch Plasmodien (Sullivan *et al.*, 2000). In plazentaren Proben kann es als Indikator einer *P. falciparum*-Infektion während der Schwangerschaft angesehen werden (McGready *et al.*, 2002), selbst wenn die Infektion zum Zeitpunkt der Geburt nicht mehr akut ist. Die Lokalisation des Pigments in Erythrozyten, intervillösen Monozyten, im Zytoplasma von Makrophagen oder frei zwischen Fibrinablagerungen des Gewebes (Walter, 1982) lässt Rückschlüsse ziehen auf den Zeitpunkt der Infektion mit *P. falciparum* (Ismail *et al.*, 2000). Anhand von Parasitämie und Pigmentnachweis wurde von Bulmer *et al.* (1993) eine Klassifikation der plazentaren Infektion entwickelt (s. Kapitel 2.3.2.). So kann die Plazenta quasi als „Flugschreiber“ der Malaria in der Schwangerschaft, vor allem des dritten Trimesters, angesehen werden.

1.2 Die Sichelzellanämie

Die Sichelzellanämie (Drepanozytose) ist eine autosomal-rezessiv erbliche Hämoglobinopathie, die durch eine Variante der Kette des Hämoglobinmoleküls ausgelöst wird; das Sichelzellhämoglobin. Das β -Globin-Gen ist auf dem kurzen Arm von Chromosom 11 lokalisiert. Heterozygote Träger des Gens sind klinisch in der Regel unauffällig. Für die klinische Ausprägung der Krankheit ist der homozygote Trägerstatus des Sichelzellgens notwendig; oder aber eine Kombination mit bestimmten anderen genetischen Varianten der β -Kette. Einige dieser Varianten sind homozygot auch eigenständige Auslöser einer der Sichelzellanämie ähnlichen Erkrankung (Ashley-Koch *et al.*, 2000). Für das Sichelzellhämoglobin wurden bisher fünf Haplotypen entdeckt: Der Sengal-, Benin-, Bantu- und Kamerun-Haplotyp in Afrika, sowie der asiatische Haplotyp (Nagel, 1992).

1.2.1 Pathophysiologische Grundlagen

Im Jahre 1949 bezeichneten Pauling und seine Kollegen die Sichelzellanämie als „molekulare Erkrankung“, nachdem sie entdeckt hatten, dass das Sichelzellhämoglobin eine anormale elektrophoretische Mobilität aufwies (Pauling *et al.*, 1949). Seitdem sind eine Reihe neuer Erkenntnisse über die pathophysiologischen Mechanismen bekannt geworden, auf welche Weise die zugrunde liegende Punktmutation zu den klinischen Manifestationen führt. Durch Ersatz der Aminosäure Glutamin in Position 6 der β -Kette des Hämoglobinmoleküls durch Valin entsteht das Sichelzellhämoglobin, HbS ($\alpha^2\beta^2$) (Ingram *et al.*, 1957). Durch diese strukturelle Veränderung kommt es bei der Desoxygenierung von HbS zu hydrophoben Eigenschaften des Hämoglobinmoleküls, die eine Polymerisation der Moleküle bewirken. Diese langen, helikal angeordneten, verdichteten Molekülstränge führen zur Elongation des Erythrozyten, welcher so die klassische, sichelförmige Gestalt annimmt. Nicht bei jeder Desoxygenierung während der Passage des Kapillarbettes findet eine klinisch relevante Sichelzellbildung statt. Die Verformung der Zelle tritt mit einer gewissen Latenz ein, die zumeist länger ist, als der Erythrozyt in der Mikrozirkulation verbleibt. Normalerweise behalten etwa 80% der Erythrozyten ihre typische Form bei. Eine langsame Desoxygenierung, eine niedrige Hämoglobinkonzentration im Erythrozyten und die Höhe des HbF-Anteils sind Einflussfaktoren, die mit einer verminderten Polymerisation der HbS-Moleküle einhergehen (Nagel, 1979; Mozzarelli *et al.*, 1987; Bunn, 1997; Stuart *et al.*, 2004). Andererseits führt häufige Verformung zu Membranschäden, die eine Dehydratation bewirken und schließlich einen irreversiblen Verformungszustand des Erythrozyten münden (Hebbel *et al.*, 1991). Insbesondere diese Zellen neigen auch zu Hämolyse. Die rigiden, wenig

verformbaren Sichelzellen sind für die vaso-okklusiven Krisen verantwortlich, die das Krankheitsbild prägen (Eaton & Hofrichter, 1987). Bei Stagnation der Blutzirkulation in der Endstrombahn kommt es durch den längeren Aufenthalt der Erythrozyten im Kapillarbett zu einer erhöhten Rate von desoxygenierten Zellen und somit zu einer verstärkten Sichelzellbildung und Kapillarokklusion. Zudem adhären Sichelzellen am Kapillarepithel; ein Mechanismus, der während inflammatorischer Prozesse verstärkt auftritt (Kaul *et al.*, 1995; Bunn, 1997; Stuart *et al.*, 2004).

1.2.2 Klinik der Sichelzellanämie

Die chronische hämolytische Anämie und Gefäßverschlüsse durch Stase bilden die Grundlage des Krankheitsgeschehens beim homozygoten Anlageträger. Typisch ist ein niedriger Hämoglobingehalt von 5-10 g/dl; im Blutbild finden sich 10-20% Retikulozyten. Es imponiert im frühen Kindesalter ein Ikterus sowie schmerzhaftes Anschwellen der Hände und Füße. Das Wachstum der Kinder ist verzögert. Akute Anämie und schwere Symptome treten während der Krisen auf. Durch die Störung der Mikrozirkulation kommt es zu Infarktkrisen und Organschäden. Abdominale kolikartige Schmerzanfälle sind häufig, sowie Knochen- und Gelenkschmerzen. Infarkte betreffen insbesondere Niere, Milz, Lunge und das Gehirn. Die Folge ist langfristig eine renale Dysfunktion. Durch rezidivierende, zerebro-vaskuläre Insulte entstehen neurologische Ausfälle. Das sogenannte „acute chest syndrom“ ist eine Pneumonie-ähnliche, lebensbedrohliche Manifestation der Erkrankung. Im Verlauf kommt es durch funktionelle Asplenie und eine Beeinträchtigung der humoralen Immunabwehr gehäuft zu bakteriellen Infektionen. Im Rahmen einer akuten Infektion oder nach körperlicher Anstrengung kann es zu hämolytischen und aplastischen Krisen kommen, die mit Fieber und Schmerzen einhergehen (Ashley-Koch *et al.*, 2000; Stuart *et al.*, 2004).

Bei Homozygotie (SS) beträgt der Anteil an HbS 70 bis 99%. Ohne intensive Therapie geht die Krankheit mit einer hohen Mortalität einher. In den meisten afrikanischen Ländern erreichen homozygote Individuen nur selten das Erwachsenenalter. Bei einem HbS-Anteil von unter 50% ist hingegen die Lebenserwartung der heterozygoten Individuen kaum eingeschränkt. Der Genotyp SC ist mit einem benigneren Verlauf der Krankheit assoziiert.

1.3 Hämoglobin C

In der vorliegenden Arbeit wird außer Hämoglobin S das in der Studienpopulation ebenfalls auftretende Hämoglobin C untersucht. HbC ist eine weitere genetische Variante des adulten HbA, die fast ausschließlich in den nördlichen Savannen Westafrikas vorkommt (Devoucoux *et al.*, 1991; Modiano *et al.*, 2001; Mockenhaupt *et al.*, 2004). Es entsteht durch den Ersatz

von Glutamin durch Lysin in Position 6 der β -Kette des Hämoglobinmoleküls. Individuen mit HbAC sind in der Regel asymptomatisch, der homozygote Trägerstatus geht mit milden Symptomen einher wie einer leichten Hämolyse, Splenomegalie und Gallensteinen. Sehr selten kommt es zu vasookklusiven Krisen (Duflo *et al.*, 1985). Im Blutausstrich Homozygoter finden sich vermehrt Spherozyten und Schießscheibenzellen. Ein weiteres pathologisches Korrelat der strukturellen Veränderung des Hämoglobinmoleküls ist der Anstieg des mittleren Hämoglobingehalts (MCHC (engl.): mean corpuscular hemoglobin concentration) des Erythrozyten. Eine intrazelluläre Kristallisation des Hämoglobins ist die Folge. Bei heterozygoten Individuen sind diese morphologischen Veränderungen weniger ausgeprägt, jedoch sind auch HbAC- Erythrozyten rigider als jene mit normalem Hämoglobin (Fabry *et al.*, 1981; Fairhurst *et al.*, 2003).

1.4 Malariahypothese

Im Jahre 1949 formulierte Haldane ein Erklärungsmodell für die Beobachtung, dass die β -Thalassämie im Mittelmeerraum so häufig auftrat. Er postulierte, dass sie vor der in früheren Zeiten in dieser Region endemischen Malaria schützte, und dadurch selektiert wurde. Auch andere Varianten des menschlichen Genoms könnten mit einer verminderten Schwere und Häufigkeit der Malaria einhergehen. Das Vorkommen dieser genetischen Varianten fast ausschließlich in Endemiegebieten der Malaria könnte durch eine Malariavermittelte positive Selektion dieser Gene erklärt werden. Diese Selektion entstehe durch einen balancierten Polymorphismus, bei dem der Verlust durch frühzeitige Todesfälle von homozygoten Anlageträgern durch eine bessere Überlebensfähigkeit heterozygoter Individuen ausgeglichen wird. Diese Idee wurde als Malariahypothese bekannt und ist in den letzten Jahrzehnten für verschiedene erythrozytäre, genetische Varianten diskutiert worden (Hill *et al.*, 1992; Luzzatto *et al.*, 1995; Weatherall *et al.*, 1997).

1.4.1 Malaria und Hämoglobin S

Für den Fall der Sichelzellanämie gilt die Malariahypothese als bestätigt. Die geographische Verteilung der erblichen Hämoglobinopathie korreliert mit der Prävalenz der Infektionskrankheit. Bereits 1952 konnte Allison in Kenia zeigen, dass bei den Bewohnern der malariefreien Gebirgsregionen die Prävalenz des Sichelzellgens nur 1% betrug, wohingegen in den hochendemischen Malariagebieten nahe des Victoriasees Prävalenzen von bis zu 20% registriert wurden. Heterozygote Anlageträger erkrankten weniger schwer und

seltener an einer Infektion mit *P. falciparum* (Allison, 1954; Bienzle *et al.*, 1980; Greenwood *et al.*, 1991).

Der durch HbAS vermittelte protektive Effekt äußert sich vornehmlich durch einen milderen Krankheitsverlauf. Schwere Malaria, d.h. zerebrale Malaria und schwere Anämie, ist bei Kindern mit HbAS seltener (Gilles *et al.*, 1967; Gendrel *et al.*, 1992). Hill *et al.* (1991) fanden bei Kindern mit HbAS ein um 90% vermindertes Risiko einer schweren Malaria; eine neuere Untersuchung in Ghana kommt zu übereinstimmenden Ergebnissen (Mockenhaupt *et al.*, 2004). In Kenia konnte gezeigt werden, dass HbAS bei Kindern im Alter von 2-16 Monaten mit einer Halbierung des Mortalitätsrisikos gegenüber Kindern mit HbAA einherging. Eine signifikante Reduktion der Inzidenz malariaassoziiertes schwerer Anämie (Hb < 6g/dl) und Episoden hoher Parasitendichte (>10 000 P/μl) wurde ebenfalls beobachtet (Aidoo *et al.*, 2002). Des Weiteren geht HbAS mit einer geringeren Prävalenz hoher Parasitämien einher (Thompson, 1962, 1963; Le Hesran *et al.*, 1999; Lell *et al.*, 1999; Mockenhaupt *et al.*, 2004). Keine, oder nur geringe Auswirkungen hat HbAS auf Infektionsprävalenz und milde Krankheitsverläufe (Gendrel *et al.*, 1991; Stirnadel *et al.*, 1999).

Die oben genannten Studien konnten die schützende Wirkung des Gens bei Kleinkindern und jüngeren Schulkindern nachweisen; bei Erwachsenen und älteren Kindern wird die angeborene Protektion von den Effekten der erworbenen Immunität überdeckt. Nach Allen *et al.* (1992) ist der Einfluss des Sichelzellgens bei Kindern nach dem sechsten Lebensjahr aus diesem Grund nicht mehr feststellbar. Willcox *et al.* (1983) konnten in Liberia bei einer gemischten Probandengruppe aus Kindern und Erwachsenen einen protektiven Effekt von HbAS nachweisen. Diese Probanden hatten jedoch aufgrund eines effektiven Malariakontrollprogramms eine geringe Immunität gegenüber *P. falciparum*.

Über den Einfluss des Gens bei Schwangeren existieren bisher nur wenige Veröffentlichungen. Die Mehrzahl dieser Studien konnte keinen protektiven Effekt des Sichelzellgens bei den Probandinnen nachweisen (Van Dongen & Van't Hof, 1983; Brabin & Perrin, 1985; Cot *et al.*, 1993; Bouyou-Akotet *et al.*, 2003). Hinweise auf einen Schutz auch bei Schwangeren entstammen Arbeiten von Fleming *et al.* (1979). Er konnte in Nigeria bei jungen Primigravidae mit HbAS eine geringere Infektionsprävalenz und niedrigere Parasitendichten nachweisen als bei denjenigen Frauen mit HbAA. Fraglich blieb in dieser Studie allerdings, inwiefern die Primigravität oder das geringe Durchschnittsalter (16 Jahre) der Probandinnen für die Ergebnisse eine Rolle spielten. Menendez *et al.* (1995) konnten in einer Studie über Eisensubstitution beobachten, dass in der Gruppe der eisensubstituierten Frauen diejenigen mit HbAS häufiger eine plazentare Malaria hatten als diejenigen mit

HbAA. In der Placebogruppe bestand hingegen kein Unterschied, was darauf hindeutet, dass der malariaprotektive Mechanismus von HbAS durch Eisengabe abgeschwächt werden könnte.

Die zellulären und immunologischen Mechanismen, durch die HbAS Schutz vor Malaria vermittelt, sind nur unzureichend geklärt. Die bekannten Hypothesen beruhen auf Beobachtungen *in vitro*: Eine Hemmung der Parasiteninvasion in die Zelle, reduziertes intrazelluläres Wachstum des Parasiten, eine veränderte Neoantigenexpression und gesteigerte Empfindlichkeit gegenüber oxidativem Stress (Übersichten in Wilkinson & Pasvol, 1997; Roberts & Williams, 2003). In einer neueren *in vitro* Untersuchung konnten keine Unterschiede des Verhaltens *P. falciparums* bezüglich Invasion und Parasitenwachstum zwischen HbAS enthaltenden und normalen Erythrozyten demonstriert werden. Es wurde vielmehr beobachtet, dass von frühen Ring-Formen der Parasiten befallene HbAS-Erythrozyten einer beschleunigten, vorwiegend Komplement-vermittelten Phagozytose unterliegen (Ayi *et al.*, 2004). Abdulhadi (2003) schlug vor, dass die Verformung des infizierten Erythrozyten zur Sichelzelle mit einer Veränderung der Expression von parasitären, an der Oberfläche des Erythrozyten exprimierten Liganden einhergeht. Diese Modifikationen könnten mit einer verminderten endothelialen Adhäsionsfähigkeit der Erythrozyten einhergehen und somit die Sequestrierung der Zellen einschränken. Ebenfalls käme es zu einer Veränderung des durch die Antigene induzierten inflammatorischen Prozesses, d.h. einer veränderten Zytokinfreisetzung. Zwei wesentliche pathogenetische Faktoren der Ausbildung einer schweren Malaria wären auf diese Weise beeinflusst und könnten den protektiven Effekt vor schwerer Malaria von HbAS erklären. Eine verändertes Adhäsionsfähigkeit von HbS-enthaltende Erythrozyten konnte jedoch bis dato nicht demonstriert werden (Udomsangpetch *et al.*, 1993; Williams *et al.*, 2002).

Schon Allison (1984) vermutete, dass der Schutzmechanismus des Sichelzellgens nicht gänzlich unabhängig von der Entwicklung der Immunität agiert. Ringelmann *et al.* fanden 1976 in einer Untersuchung an über 4000 Kindern in Accra (Ghana) bei Kindern mit HbAS zwar höhere Infektionsraten, und auch - im Laufe der ersten drei Lebensjahre - höhere Überlebensraten als bei denjenigen mit HbAA. Ringelmann folgerte hieraus, dass die Kinder mit HbAS durch häufigere Infektionen schneller eine Immunität aufbauen. Bayoumi *et al.* (1990) konnten bei Individuen mit HbAS eine gesteigerte zelluläre Immunantwort auf bestimmte *P. falciparum*-Antigene feststellen. In nachfolgenden Studien konnten die Ergebnisse zum Teil untermauert (Abu-Zeid *et al.*, 1991, 1992a), oder aber widerlegt werden (Abu-Zeid *et al.*, 1992b, Allen *et al.*, 1992). Ntoumi *et al.* (1997) fanden bei

asymptomatischen Kindern mit HbAS in Gabun einen höheren Anteil polyklonaler Infektionen als bei Kindern mit HbAA. In anderen Untersuchungen wurden entsprechende Beobachtungen nur als Trend festgestellt (Branch *et al.*, 2001; Ntoumi *et al.*, 2002) bzw. nicht bestätigt (Konate *et al.*, 1999). Komplexe polyklonale und zudem asymptomatische Infektionen, d.h. solche mit hoher Multiplizität, erhalten einen Zustand der Premunition aufrecht (Smith *et al.*, 1999) und bieten gewissen Schutz vor klinischer Malaria (Al-Yaman *et al.*, 1997; Muller *et al.*, 2001).

1.4.2 Malaria und Hämoglobin C

Hämoglobin C kommt fast ausschließlich in Westafrika vor; in Nordghana und Burkina Faso mit Prävalenzen von bis zu 20% (Modiano *et al.*, 2001; Mockenhaupt *et al.*, 2004). Die protektiven Eigenschaften von HbC hinsichtlich der Malaria wurden schon vor Jahrzehnten postuliert (Edington, 1957). Eine Bestätigung der Gültigkeit der Malariahypothese für HbC gelang jedoch längere Zeit nicht. Ältere Studien konnten bei Kindern mit HbAC keinen Schutz vor Infektion oder hohen Parasitämien feststellen (Thompson 1962, 1963; Gilles *et al.*, 1967). Hinweise auf einen protektiven Effekt von HbAC entstammen der Arbeit von Ringelmann (1976), der bei Kindern mit HbAC eine höhere Überlebensrate in den ersten Lebensjahren konstatierte. Erst in den letzten Jahren gelang es einigen Autoren, einen relativen Schutz vor Malaria bei Kindern mit HbAC nachzuweisen. Die aus diesen Arbeiten gewonnenen Erkenntnisse sind jedoch noch unvollständig. Unklar ist, ob Hämoglobin C vor einer Infektion, der Erkrankung oder beidem schützt, und in welchem Ausmaß. In Mali (Agarwal *et al.*, 2000) war HbC mit einem verminderten Risiko einer schweren Malaria assoziiert. Vor milden Krankheitsverläufen bestand kein Schutz. Eine Protektion vor milder Erkrankung konnten dagegen Rihet *et al.* (2003) in Burkina Faso nachweisen. Kinder mit HbAA hatten in jener Studie ein 2,7fach erhöhtes Risiko, an einer unkomplizierten Malaria zu erkranken und höhere Parasitendichten als ihre Altersgenossen mit HbC. Auch Modiano *et al.* (2001) konnten in Burkina Faso einen Schutz vor milder Malaria bei Kindern mit HbC beobachten. In letztgenannter Untersuchung konnte zudem gezeigt werden, dass HbAC das Risiko einer klinischen Malaria nur um 30% senkte; bei Kindern mit HbCC war das Risiko hingegen um 90% niedriger als bei der Kontrollgruppe mit HbAA, was eine stärkere Protektion des homozygoten Trägerstatus suggeriert. Mockenhaupt *et al.* (2004) fanden bei Kindern mit HbAC ein niedrigeres Risiko, an einer schweren Malaria zu erkranken. Das Risiko einer schweren Anämie war ebenfalls reduziert. Keine Auswirkung hatte HbAC auf Infektionsprävalenz und die Parasitendichte bei asymptomatischen Kindern. Über den Einfluss

von HbC auf *P. falciparum*-Infektion und die klinischen Manifestationen einer Erkrankung bei Schwangeren gibt es bisher keine Veröffentlichung.

Auf welche Weise Individuen mit HbAC bzw. HbCC vor Malaria geschützt sind, ist nicht vollständig geklärt. Bisherige Erkenntnisse aus Studien *in vitro* liefern zum Teil widersprüchliche Hinweise. Einige Untersucher stellten fest, dass *P. falciparum* in Erythrozyten homozygoter Probanden mit HbC nicht in der Lage waren, sich zu vermehren (Olson *et al.*, 1986; Friedmann, 1979). Olson *et al.* (1986) schlugen vor, dass HbCC-Zellen ungeeignete Wirtszellen für *P. falciparum* darstellen, weil sie eine höhere osmotische Resistenz aufweisen als normale Erythrozyten. Deshalb wäre die Freisetzung von Merozoiten zum geeigneten Zeitpunkt der intraerythrozytären Entwicklung des Parasiten durch die verminderte Lysefähigkeit der HbCC-Zellen verhindert. Es wurden jedoch *in vivo* bereits hohe Parasitendichten bei Individuen mit HbCC gefunden (Agarwal *et al.*, 2000). Pasvol und Wilson (1982) beobachteten ein um nur 50% verringertes Wachstum von *P. falciparum* in HbCC-Zellen, und auch die Entwicklung der Parasiten verlief normal. Eine neuere *in vitro* Studie zeigt, dass das Wachstum von *P. falciparum* in HbCC-Erythrozyten zwar stattfindet, aber die Vermehrungsrate signifikant vermindert ist (Fairhurst *et al.*, 2003). Außerdem registrierten die Untersucher morphologische Veränderungen der Erythrozytenoberfläche, die für eine verminderte Adhäsionsfähigkeit und Expression parasitärer pathogener Antigene verantwortlich sein könnten. Erst kürzlich konnten die Autoren (Fairhurst *et al.*, 2005) diese Annahme bestätigen.

1.5 Zielsetzung der Arbeit

Schwangere stellen hinsichtlich der Malaria eine Risikogruppe dar. Die Auswirkungen einer Infektion mit *P. falciparum* gehen bei Mutter und Kind mit erheblichen gesundheitlichen Risiken einher. Ein protektiver Einfluss von HbAS und HbAC auf die Malaria tropica wurde bei Schwangeren bislang nur unzureichend untersucht. Die Genfrequenzen dieser Hämoglobinopathien und die hohe Endemizität der Malaria tropica im Studiengebiet bieten geeignete Voraussetzungen, einen solchen potentiellen Einfluss zu untersuchen. Eine hohe Probandenzahl und die Analyse von Infektionsparametern, die auch Rückschlüsse auf bereits stattgefundenen Infektionen erlaubt, sind zu diesem Zweck sinnvoll. Um die Relevanz der Infektion für die Morbidität zu beurteilen, ist eine Untersuchung der klinischen Manifestationen unabdingbar.

In dieser Arbeit sollen die Prävalenz einer plazentaren *P. falciparum*-Infektion in einem holoendemischen afrikanischen Gebiet sowie die Häufigkeit von HbAS und HbAC ermittelt werden. Auch sollen Anämie der Mutter, niedriges Geburtsgewicht des Kindes und Frühgeburtslichkeit als klinische Auswirkungen der plazentaren Infektion untersucht werden und zu der Infektion in Bezug gestellt werden.

Es soll analysiert werden, ob sich die Prävalenz der plazentaren *P. falciparum*-Infektion und die Parasitendichten zwischen Individuen mit HbAS bzw. HbAC und HbAA unterscheiden. Schließlich soll der Einfluss des Genotyps auf die klinischen Erscheinungen ermittelt werden, die eine plazentare *P. falciparum*-Infektion begleiten.

Die Kenntnis von Zusammenhängen zwischen Infektion und genetischer Disposition des Wirtes kann zum Verständnis der Pathophysiologie der Malaria und der Ausbildung einer Immunität beitragen und Informationen für die Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze liefern.