

6. Diskussion

6.1. Die Manifestationsformen der Infektion mit *Plasmodium falciparum*

6.1.1. Asymptomatische Infektion und unkomplizierte Malaria

Die klinisch-epidemiologischen Befunde bei Kindern aus dem städtischen Ibadan und dem ländlichen Abanla im Südwesten Nigerias entsprechen der Situation in einem holoendemischen Malariagebiet. Dafür sprechen einerseits die sehr hohe Prävalenz der Infektion schon ab frühem Kindesalter und andererseits das Überwiegen asymptomatischer Parasitämien [M3, M6]. Die Bewohner holoendemischer Malariagebiete sind von Geburt an kontinuierlich der Infektion mit *Plasmodium* ausgesetzt. In manchen dieser Gebiete erhalten die Einwohner mehr als einen infektiösen *Anopheles*-Stich pro Nacht (Owusu-Agyei *et al.*, 2002). Dieser starke Infektionsdruck führt zu einer vergleichsweise raschen Ausbildung protektiver Immunität gegen schwere Malaria. Schwere Malaria bei Kindern ist umso seltener je grösser die Übertragungsrate von *P. falciparum* ist (Snow *et al.*, 1998; Gupta *et al.*, 1999). Die Rate Malaria-bedingter Krankenhausaufnahmen steigt bei Kindern mit der Intensität der Übertragung bis zu einem Plateauwert, um bei noch stärkerer Transmission, scheinbar paradox, wieder abzufallen (Snow *et al.*, 1997). In ähnlicher Weise zeigen Säuglinge, die der höchsten Exposition ausgesetzt sind, ab dem zweiten Lebenshalbjahr die geringsten Raten schwerer Malaria (Snow *et al.*, 1998). Es wird vermutet, dass Säuglinge unter intensiver Exposition für bis zu einem halben Jahr durch mütterliche Antikörper vor klinischer Manifestation geschützt sind und währenddessen Immunmechanismen entwickeln, die in ihrem Ausmass jenes von Kindern, die bei geringerer Transmission heranwachsen, übersteigt. Mathematischen Modellen zufolge bedarf es dabei nur weniger infektiöser Stiche, um das Risiko schwerer, nicht-zerebraler Malaria deutlich zu senken (Gupta *et al.*, 1999).

Die Bedeutung der Endemizität zeigt sich auch an der Epidemiologie unkomplizierter Malariafälle. In einem holoendemischen Malariagebiet im Senegal erlitten die Bewohner durchschnittlich 43 Malariaanfälle bis zu ihrem 60. Lebensjahr, davon nur 23% im Erwachsenenalter. Der Erkrankungsgipfel lag im zweiten Lebensjahr. In einem Kontrollgebiet mit ca. zehnfach geringerer Transmission wurden durchschnittlich 62 Malariaepisoden bis zum 60. Lebensjahr verzeichnet, 41% davon im Erwachsenenalter. Der Altersgipfel unkomplizierter Malaria lag bei fünf Jahren (Rogier *et al.*, 1995).

Die Querschnittstudie im holoendemischen Nigeria [M3] war mit einer Reihe methodologischer Probleme behaftet. Das Studiendesign ermöglichte nur Aussagen zur Prävalenz

parasitologischer und klinischer Befunde. Unter der Prämisse, dass auch bei Kindern der Grossteil der Infektionen als asymptomatisch-chronische Parasitämie verläuft (Greenwood *et al.*, 1987; Trape *et al.*, 1994; Bottius *et al.*, 1996; Färnert *et al.*, 1997; Wagner *et al.*, 1998; Färnert *et al.*, 1999; Bruce *et al.*, 2000) kann eine Querschnittserhebung dennoch gültige Aussagen zur Epidemiologie der Malaria treffen. Diese bewegen sich allerdings auf der Ebene der Assoziation und lassen kausale Schlüsse nur bedingt zu. Ungeachtet dieser Einschränkung legt der Zusammenhang zwischen Parasitendichte einerseits und Milzgrösse und Antikörpertitern andererseits die Existenz chronisch-persistierender Parasitämien bei der Mehrzahl der Kinder nahe [M3]. Das Heranziehen von Fieber als Merkmal klinischer Manifestation (Greenwood *et al.*, 1987; Cox *et al.*, 1994) bleibt jedoch aufgrund zirkadianer Varianz dieses Symptoms problematisch. Die Parasitendichten wurden durch die Mikroskopie von 100 Gesichtsfeldern quantifiziert. Diese Art der Auszählung bietet den Vorteil, dass starke inter-individuelle Abweichungen in der Leukozytenzahl nicht zu einer Verzerrung der Parasitendichte führen, schliessen aber den Vergleich mit Studien, die konventionelle Verfahren anwenden, aus. Nur ca. 20% der Probanden wiesen eine Infektion unterhalb der Nachweisgrenze der Mikroskopie auf; dieser Anteil erreicht in anderen Endemiegebieten bis zu 80% (Snounou *et al.*, 1993b; Bottius *et al.*, 1994; Wagner *et al.*, 1998; Färnert *et al.*, 1999). Dies kann in Altersunterschieden der Studienpopulationen und der Endemizität, aber auch in der Güte der mikroskopischen Untersuchung begründet sein.

Die *Plasmodium*-Spezies wurde mittels PCR, nicht aber mikroskopisch bestimmt, was die Bestimmung des Anteils der jeweiligen Erreger an submikroskopischen Infektionen ausschloss. Es ist bekannt, dass *P. malariae* und *P. ovale* aufgrund ihrer in der Regel niedrigen Parasitendichten bei gemischten Infektionen mit *P. falciparum* regelhaft übersehen werden (Knowles & White, 1930). In Papua New Guinea erbrachte die Verwendung der PCR im Vergleich zur Mikroskopie eine 18-fach höhere Prävalenz gemischter Infektionen (Mehlotra *et al.*, 2000). Diese methodologischen Überlegungen sind bei der Frage nach Interaktionen zwischen den Spezies von Bedeutung. Bestehen solche, evtl. über Kreuzimmunität regulierte, Interaktionen, ist ein Mangel oder Überschuss nicht aber eine zufällige Verteilung gemischter Infektionen zu erwarten. In der nigerianischen Studie wurden mehr Dreifachinfektionen (*P. falciparum* – *P. malariae* – *P. ovale*) beobachtet, als von den Prävalenzen der Spezies zu erwarten gewesen wäre [M3]. Doppelinfektionen mit *P. falciparum* und *P. malariae* traten erwartet häufig, Infektionen mit *P. falciparum* und *P. ovale* halb so häufig wie erwartet auf. Eine überzufällige Häufung von *P. falciparum*-*P. malariae* Doppelinfektionen wurde in anderen Malariagebieten beobachtet (Molineaux *et al.*, 1980; Richie, 1988; Singh *et al.*, 1999).

Andere Autoren beschreiben ein voneinander unabhängiges Vorkommen einzelner *Plasmodium*-Spezies (Snounou *et al.*, 1993a; b; Postigo *et al.*, 1998; Blampain-Azzibrouck *et al.*, 1999; McKenzie & Bossert, 1999; Mehlotra *et al.*, 2000; Smith *et al.*, 2001b). Die Ursache dieser widersprüchlichen Befunde mag in der Vielzahl möglicher Einflussfaktoren liegen. So zeigt die Prävalenz von *P. malariae* und *P. ovale* wie auch in der nigerianischen Studie [M3] einen höheren Altersgipfel als die von *P. falciparum* und eine Häufung in der Trockenzeit (Onori, 1967; Molineaux *et al.*, 1980; Afari *et al.*, 1993; Bruce *et al.*, 2000; Mehlotra *et al.*, 2000; Smith *et al.* 2001b). In Nigeria wiesen rund 29% der Kinder aus dem ländlichen Abanla gemischte Infektionen auf; bei Schulkindern in der Stadt Ibadan waren dies nur 8,5% [M3]. Dies kann durch ein vermutetes tierisches Reservoir von *P. malariae* in ländlichen Gebieten bedingt sein (Browne *et al.*, 2000). Nahe liegender ist jedoch der Effekt residueller Chloroquinspiegel bei Stadtkindern.

In Nigeria wiesen 52% der Kinder Chloroquin im Blut auf [M7]. Bei einer ähnlichen Studie in Tansania von 1988 (Hellgren *et al.*, 1994) lag dieser Anteil zwar bei 80%; nur bei 2% der Kinder bestanden jedoch prophylaktische Wirkspiegel. In Nigeria waren dies 13%. Ungeachtet dieser Unterschiede deuten diese Zahlen darauf hin, dass bei Kindern im tropischen Afrika Chloroquin im Blut häufig, wenn nicht nahezu die Regel ist. Dies kann weitreichende Bedeutung für die Epidemiologie der Malaria haben. Während im ländlichen Abanla bei 40% der Kinder Chloroquin im Blut nachzuweisen war, lag dieser Anteil in Ibadan bei 54-72% [M7]. Da für *P. malariae* und *P. ovale* schon bei sehr niedrigen Konzentrationen des Medikaments eine signifikante Reduzierung ihres Vorkommens beobachtet wurde, liegt es nahe, dass der Unterschied im Vorkommen gemischter Infektionen zwischen ländlichem und städtischem Studienort durch Chloroquin bedingt war. Der häufigere Nachweis von Chloroquin bei Kindern aus der Stadt deckt sich mit einem generell höheren Gebrauch von Malaria-medikamenten in urbanen Gebieten (Plowe *et al.*, 1996) und lässt infolge der langen Halbwertszeit der Substanz (Wetsteyn *et al.*, 1995) auf eine anhaltende, wenn nicht kontinuierliche Beeinflussung der Epidemiologie gemischter Infektionen schliessen. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, dass mit zunehmendem Alter gemischte Infektionen häufiger auftraten, Chloroquin jedoch seltener nachzuweisen war [M3, M7]. Ob dies Kausalität oder Koinzidenz entspricht, ist unklar. Die häufigere Einnahme des Malariamedikaments und höhere Wirkspiegel bei jungen Kindern spiegeln vermutlich deren höhere Malaria-Morbidität wider. Dies wird unterstützt durch den hohen Anteil an Vorbehandlung und die vergleichsweise hohen Wirkspiegel bei Kindern, die in Gesundheitsposten rekrutiert wurden. Mit zunehmender Konzentration von Chloroquin traten mikroskopisch nachweisbare Parasitämien seltener,

submikroskopische Infektionen dagegen häufiger auf. Bei Kindern mit Infektionen unterhalb der mikroskopischen Nachweisgrenze waren Chloroquinspiegel ähnlich häufig anzutreffen (70%) wie bei nicht-infizierten Kindern. Inwieweit diese Konstellation die Supprimierung der Infektion auf submikroskopisches Niveau oder aber die Erfassung abgetöteter Erreger widerspiegelt, ist unklar. Da letztere mittels der PCR nur für einen Zeitraum von ca. zwei Tagen angezeigt werden (Jarra & Snounou, 1998), ist die erste Erklärung wahrscheinlicher.

In der Gruppe asymptomatischer nigerianischer Kinder manifestierte sich die Infektion mit *P. falciparum* vorwiegend mit einer Anämie. Die Hämoglobinkonzentrationen bei diesen Probanden lagen durchschnittlich ca. 1-3 g/dL unterhalb kaukasischen Referenzwerten [M6]. Neben der *P. falciparum*-Infektion tragen hereditäre Faktoren wie die α^+ -Thalassämie [M1] oder der G6PD-Mangel (May *et al.*, 2000a) zu dieser Differenz bei. Auch andere Ursachen wie Mangelernährung, insbesondere Eisen- und Folatmangel, und Infektionen mit Hakenwürmern oder dem HI-Virus sind wahrscheinlich, wurden jedoch nicht erfasst. Die Anämie korrelierte mit der Parasitendichte, war gehäuft auch bei submikroskopischen Infektionen, und war assoziiert mit dem Bestehen einer Splenomegalie [M6] sowie mit der Multiplizität der Infektion (s. u.). Zur Erklärung der Pathogenese der Anämie chronischer *P. falciparum*-Infektionen mit niedriger Parasitendichte wie in der Studiengruppe wird sowohl die Hämolysen infizierter und nicht-infizierter Erythrozyten (Kitua *et al.*, 1997) als auch Dyserythropoese (Abdalla *et al.*, 1980) herangezogen. In Nigeria konnte gezeigt werden, dass die Konzentrationen von sTfR bei asymptomatischer und auch submikroskopischer *P. falciparum*-Infektion erhöht sind. Dies spricht gegen eine Hemmung der Knochenmarksaktivität und für das Überwiegen einer hämolytischen Ursache der Anämie bei asymptomatischer Parasitämie [M4]. Ergebnisse späterer Untersuchungen in Tansania und Kenia unterstützen diese Ansicht (Menendez *et al.*, 2001; Verhoeff *et al.*, 2001; Verhoeff *et al.*, 2002).

6.1.2. Malaria in der Schwangerschaft

Bei der ersten Studie zu submikroskopischen Infektionen mit *P. falciparum* in der Schwangerschaft zeigte sich, dass diese ebenso häufig sind wie mikroskopisch nachweisbare Parasitämien [M8]. Bestätigt wurden die Untersuchungen anderer Autoren zur Malaria in der Schwangerschaft (Matteelli *et al.*, 1994; Diagne *et al.*, 1997; Sullivan *et al.*, 1999) insofern, als Häufigkeit und Parasitendichten von *P. falciparum* bei Erstschwangeren am höchsten waren und mit zunehmender Schwangerschaftszahl abnahmen. Für *P. ovale* und *P. malariae* traf dies nicht zu, was auf eine spezielle Anfälligkeit von Primigravidae für *P. falciparum* (Fried

& Duffy, 1996; Granja *et al.*, 1998) hinweist. Zudem unterstützen diese Beobachtung die Anwesenheit von *P. falciparum*-Stämmen mit Expression Plazenta-spezifischer Liganden (Fried & Duffy, 1996; Reeder *et al.*, 1999) bzw. die von der Parität abhängige Entwicklung spezifischer Immunmechanismen (Fried *et al.*, 1998a; Beeson *et al.*, 1999). Die Untersuchungen in Ghana erweitern die bestehenden Befunde dahingehend, dass mit zunehmender Parität der Anteil submikroskopischer Infektionen anstieg. Dies legt nahe, dass Frauen mit mehreren vorangegangenen Schwangerschaften in der Lage sind, *P. falciparum* nicht nur auf niedrigem sondern auch auf submikroskopischem Niveau zu kontrollieren. Neben der Parität war der Gebrauch von Malariamedikamenten mit einem erhöhten Anteil submikroskopischer Infektionen assoziiert. Letzteres wurde zuvor bei nigerianischen Kindern beobachtet [M7]. Die zuvor für Westafrika als ineffizient erkannte (Nahlen *et al.*, 1989) aber im Studiengebiet empfohlene Prophylaxe mit Pyrimethamin hatte aber einen nur sehr geringen Effekt auf die Infektion mit *P. falciparum* und keinen auf die vergesellschaftete Anämie. Wie für ein holoendemisches Gebiet wie die Studienregion (Browne *et al.*, 2000) zu erwarten, manifestierte sich die Infektion weitgehend asymptomatisch. Nur 15% der Frauen waren febril; Anämie und eine Erhöhung der Plasmawerte des CRP lagen dagegen bei mehr als der Hälfte der Schwangeren vor. Ebenfalls als Hinweis auf die zunehmende Kontrolle der Infektion und in Übereinstimmung mit den Befunden anderer (Matteelli *et al.*, 1994; Ordi *et al.* 1998; Sullivan *et al.* 1999; Menendez *et al.*, 2000b) nahmen Fieber, Anämie und entzündliche Reaktion mit zunehmender Parität ab. Zwar war die submikroskopische *P. falciparum*-Infektion in der Studiengruppe mit einer Erniedrigung der Hämoglobinkonzentrationen assoziiert. In multivariater Analyse stellte sie jedoch keinen Risikofaktor für Anämie dar. Zu ähnlichen Ergebnissen kommt eine Studie aus Mosambik (Saute *et al.*, 2002). Unklar war bislang, ob submikroskopische Infektionen bei Schwangeren ebenso wie bei Kindern (Bottius *et al.* 1996; Wagner *et al.*, 1998; Färnert *et al.*, 1999) niedriggradige Parasitendichten darstellen. So ist vorstellbar, dass bei Schwangeren *P. falciparum* infolge plazentarer Sequestrierung nicht nur der Erfassung durch die Mikroskopie peripherer Blutaussstriche entgeht, sondern evtl. nicht oder nur sehr begrenzt an der systemischen Zirkulation teilnimmt.

In der Folgestudie bei gebärenden Frauen konnte diese Fragestellung anhand des Vergleiches peripherer und plazentarer Blutproben näher untersucht werden [M15]. Es zeigte sich, dass die Mikroskopie peripherer Blutaussstriche für die Diagnose einer *P. falciparum*-Infektion in der Schwangerschaft ungeeignet ist. Nur 42% der mikroskopisch darstellbaren plazentaren Parasitämien gingen mit einem positiven Befund in der Mikroskopie peripherer Blutaussstriche einher. Bei niedriggradigen oder gar submikroskopischen plazentaren Infektio-

nen war die Sensitivität noch niedriger. Dies unterstützt einerseits ältere Arbeiten (Desowitz & Alpers, 1992). Andererseits muss festgestellt werden, dass das sog. *case management*, also die antiparasitäre Behandlung Schwangerer nur bei (febriler) peripherer Parasitämie (Ndyomugenyi & Magnussen, 2000), die in vielen Regionen Afrikas noch als Methode der Malaria-Kontrolle angewendet wird, obsolet ist. Nahezu alle mikroskopisch nachweisbaren plazentaren Parasitämien gingen mit einem positiven PCR-Signal der peripheren Blutprobe einher. Im Umkehrschluss legt dieser Befund nahe, dass die im peripheren Blut als submikroskopisch imponierenden Infektionen Ausdruck einer plazentaren Infektion sind. In dieser Studie war die submikroskopische Infektion eindeutig mit Anämie assoziiert [M15]. Ein positives Testergebnis des Antigenschnelltests (ICT Malaria *P.f/P.v* Test) im peripheren Blut ging bei Schwangeren mit negativem peripheren Blutaussstrich zudem mit einer Verdopplung des Risikos für Frühgeburtlichkeit und LBW einher. Ein darüber hinaus positives PCR-Ergebnis war dagegen nicht mit klinischer Manifestation vergesellschaftet (Mockenhaupt *et al.*, unveröffentlicht). Eine zeitgleich in Malawi durchgeführte Studie kommt zu ähnlichen Ergebnissen. Mankhambo *et al.* (2002) zeigten, dass mittels eines enzymatischen Schnelltests (OptiMAL) identifizierte Infektionen mit *P. falciparum* bei scheinbar aparasitämischen Schwangeren häufig und mit niedrigem Geburtsgewicht assoziiert waren. Darüber hinaus mit der PCR nachgewiesene Infektionen hatten keinen klinischen Effekt.

Unbeantwortet bleibt bei diesen Studien die Frage, ob der im peripheren Blut nachweisbare Parasit dem plazentar sequestrierten *P. falciparum* entspricht. Untersuchungen von plazentar-peripheren Blutproben identischer Frauen im Senegal zeigten, dass nur 10% der parallelen Proben identische *mSP1* und *mSP2*-Genotypen aufwiesen; 86% hatten teilweise konkordante Genotypen, wobei neben den konkordanten Allelen einige Allele in nur einer der beiden Proben nachgewiesen wurden (Schleiermacher & Mercereau-Puijalón, 2002). Ähnliche Ergebnisse wurden aus Malawi berichtet. Dort betrug der Anteil teilweise konkordanter Genotypen 69% (Kamwendo *et al.*, 2002). Diese Befunde decken sich mit eigenen, bislang unveröffentlichten Daten. In Ghana zeigte sich Konkordanz der *mSP1* und *mSP2* Allele in Plazenta und peripherem Blut bei ca. 13%, vollständige Diskordanz bei 9%. Darüber hinaus wurden einige *mSP*-Allele identifiziert, die überzufällig häufig in plazentaren bzw. in peripheren Blutproben nachgewiesen wurden. Dies widerspricht letztendlich einer Gleichverteilung infizierender Genotypen im Wirt. Da die Parasitendichte in der Plazenta die im peripheren Blut in der Regel übersteigt (Leke *et al.*, 1999) könnte ein Teil der Diskordanz und der häufigere Nachweis einiger Genotypen in der Plazenta durch die Sensitivität des PCR-Verfahrens bedingt sein. Ein anderer Erklärungsansatz beruht auf der Synchronizität von *P. falciparum*

(Schleiermacher & Mercereau-Puijalon, 2002; Snounou *et al.*, 2002). In der Plazenta sequestrieren späte Trophozoiten und Schizonten (Bulmer *et al.*, 1993), im peripheren Blut liegen dagegen Ringformen vor. Bei polyklonalen Infektionen ist nun denkbar, dass einige Genotypen sich im Schizontenstadium befinden, plazentar sequestrieren und daher in der Typisierung peripherer Blutproben nicht erscheinen. Eine um einen Zyklus verschobene Synchronizität identischer plazentarer und peripherer Klone geht nach diesem Modell mit identischem Genotypisierungsmuster einher; Mischformen ergeben z. T. konkordante/diskordante Muster.

Der Befund, dass das Genotypisierungsmuster von *P. falciparum*-Isolaten aus peripherem Blut nicht dem der bei Schwangeren tatsächlich vorkommenden Parasitenpopulation entspricht, kann Konsequenzen für die Deutung von typisierbaren Parasiteneigenschaften haben. Dies bezieht sich insbesondere auf die Aussagekraft von Resistenzmarkern. Inwieweit diese Überlegung praktische Relevanz hat, ist Gegenstand laufender Untersuchungen.

6.1.3. Schwere Malaria

In Nordghana ist die schwere Anämie das vorherrschende Symptom schwerer Malaria insbesondere bei jungen Kindern. Zerebrale Manifestationen sind dagegen relativ selten und treten vorwiegend bei älteren Kindern auf [M22]. Dieses Muster entspricht dem eines hochendemischen Malariagebietes und bestätigt die vorbeschriebene Altersabhängigkeit der Symptomatologie (Snow *et al.*, 1994; Imbert *et al.*, 1997; Modiano *et al.*, 1998; WHO, 2000b). Die in Tamale erhobenen Befunde sind jedoch wahrscheinlich nur eingeschränkt repräsentativ für die Region. Ursächlich liegt dem v. a. die Beeinflussung des Manifestationsmusters durch den Zugang zu medizinischer Versorgung, die Inanspruchnahme derselben, sowie der Effekt von Transmissionsunterschieden auch im kleinen geografischen Rahmen zugrunde (Modiano *et al.*, 1998; Kahigwa *et al.*, 2002). In vergleichbaren Studien in Senegal, Gambia und Burkina Faso (Waller *et al.*, 1995; Modiano *et al.*, 1998; Imbert *et al.*, 2002) waren Kinder mit schwerer Malaria älter und wiesen eine höhere Rate zerebraler Manifestation auf als in Tamale. Nur teilweise können diese Unterschiede der höheren Endemizität in Nordghana (Owusu-Agyei *et al.*, 2002) zugeschrieben werden. So trug die Klassifizierung einer schweren Anämie nach den revidierten WHO-Kriterien (2000), also ungeachtet eines Grenzwertes der Parasitendichte, zu einem verhältnismässig grossen Anteil schwerer Anämie bei.

In Tamale war die schwere Anämie mit jungem Alter, Unterernährung und Hyperlaktatämie nicht aber mit Hyperparasitämie assoziiert [M22]. In Tansania überwog die *P. falciparum*-Parasitämie die Unterernährung als Risikofaktor (Kahigwa *et al.*, 2002); in Burkina

Faso wurde die Unterernährung als bedeutsamer erachtet (Müller *et al.*, 2003). Die Befunde aus Nordghana sind scheinbar widersprüchlich, da schwere Anämie bei niedrigen Parasitendichten häufiger auftrat. Allerdings stimmt dies mit den Ergebnissen einer Studie aus Südghana überein. Dort konnten bei mehr als 80% von Kindern mit diesem Symptom mikroskopisch keine Erreger aber lösliche *Plasmodium*-Antigene im Blut nachgewiesen werden (Kurtzhals *et al.*, 2003). Dies legt nahe, dass chronische und/oder rezidivierende Infektionen während der der Rekrutierung vorangegangenen Regenzeit zu einem allmählichen Abfall der Hämoglobinkonzentrationen geführt haben. Eine solche Konstellation wurde kürzlich aus Nordghana berichtet, wo die niedrigsten Hb-Werte bei Kindern am Ende der Regenzeit beobachtet wurden (Koram *et al.*, 2003). Das seltene Auftreten von hohem Fieber bei den schwer anämischen Kindern der hier zusammengefassten Studie [M22] und ein Überwiegen asymptomatischer oder milder Manifestation bei tansanianischen Kindern mit schwerer Anämie (Schellenberg *et al.*, 2003) unterstützen diese Ansicht.

Die Letalität von 11% in der Studiengruppe in Tamale liegt im unteren Bereich der Vergleichswerte in Afrika (Marsh *et al.*, 1995; Waller *et al.*, 1995; Modiano *et al.*, 1998; WHO, 2000; Imbert *et al.*, 2002). Wie auch in anderen Studien (Marsh *et al.*, 1995; Waller *et al.*, 1995; WHO, 2000) verstarb ein Grossteil der Kinder, insbesondere jene mit zirkulatorischem Kollaps, binnen 24 Stunden nach Aufnahme, was die Notwendigkeit eines Triage-Systems und einer frühzeitigen Therapie unterstreicht. Nicht unerwartet (Marsh *et al.*, 1995; Waller *et al.*, 1995; WHO, 2000) war eine Hypoglykämie, die letztlich zu Azidose und Koma führt, mit einer schlechten Prognose behaftet. Zwar wurde routinemässig Glukose oral oder intravenös substituiert. Die hohe Letalität hypoglykämischer Kinder weist jedoch darauf hin, dass diese Massnahme alleine ohne Korrektur z.B. des Säure-Basen-Haushaltes unzureichend sein kann. Neuerdings wird die routinemässige Bolus-Infusion physiologischer Kochsalzlösung zur Verbesserung der peripheren Zirkulation, und folglich zur Korrektur einer evtl. Azidose, in Betracht gezogen (Maitland *et al.*, 2003). Dies steht jedoch der gängigen Praxis in den meisten afrikanischen Krankenhäusern entgegen, da eine Volumenüberladung befürchtet wird (Taylor *et al.*, 1993). Diese Massnahme ist bislang nicht evaluiert worden. Eine Besonderheit der Studiengruppe in Tamale war, dass Unterernährung ein unabhängiger Risikofaktor für den letalen Ausgang einer schweren Malaria darstellte. Es ist nicht sicher auszuschliessen, dass einige dehydrierte Kinder fälschlich als unterernährt klassifiziert wurden und so diesen Zusammenhang beeinflusst haben. Trotz der spärlichen Datenlage zu diesem Thema scheint jedoch die Unterernährung die Letalität schwerer Malaria zu heben (Genton *et al.*, 1997; Schellenberg *et al.*, 1999; Rice *et al.*, 2000). Die schwere Anämie dagegen, häufigstes Sym-

ptom in unserer Studiengruppe, war in Abwesenheit anderer Symptome und in Übereinstimmung mit Befunden aus Gambia (Waller *et al.*, 1995) nicht mit Sterblichkeit assoziiert.

In der zusammengefassten Untersuchung [M22] wurde die revidierte WHO-Klassifizierung (2000) der schweren Malaria angewendet. Die dabei herangezogenen, vorwiegend klinischen Kriterien können sicher und schnell erfasst werden; Laborparameter werden nur begrenzt benötigt. In der Studie in Tamale wurden drei Kinder mit anschliessend tödlichem Verlauf durch die revidierten Kriterien nicht aber durch die bislang geltenden (Warrell *et al.*, 1990) als Patienten mit schwerer Malaria identifiziert. Andererseits wiesen Kinder, die nur nach dem Kriterienkatalog von 2000 nicht aber nach dem von 1990 als Patienten mit schwerer Malaria erfasst wurden, einen vergleichsweise milderen Verlauf und eine fünffach niedrigere Letalität auf. Die höhere Sensitivität der Klassifizierung von 2000 und der geringere Laboraufwand sprechen trotz der relativ geringeren Spezifität letztendlich für eine höhere Praktikabilität der revidierten Klassifizierung insbesondere in Einrichtungen mit limitierten Ressourcen.

6.2. Parasitäre Merkmale bei der Manifestation der Malaria tropica

6.2.1. Multiplizität der Infektion, Prämunitio und Anämie

Dem Konzept der Prämunitio zufolge erwerben Bewohner endemischer Gebiete mit zunehmendem Alter die Fähigkeit, Infektionen mit *P. falciparum* zu kontrollieren statt zu eliminieren (Sergent & Parrot, 1945). In einer Erweiterung dieses Modells geht die Ausbildung einer Semi-Immunität, d.h. der Kontrolle von Infektion auf das Niveau chronisch-persistierender und asymptomatischer Parasitämien, mit einer zunehmenden Multiplizität der Infektion (MOI) einher (Smith *et al.*, 1999b). Diese wiederum ist mit einem reduzierten Risiko nachfolgender Krankheitsepisoden assoziiert (Contamin *et al.*, 1996; Al-Yaman *et al.*, 1997; Beck *et al.*, 1997; Färnert *et al.*, 1997; Färnert *et al.*, 1999; Müller *et al.* 2001; Magesa *et al.* 2002), wenn dies auch nicht durchgängig bestätigt wird (Branch *et al.* 2001; Ofusu-Okyere *et al.* 2001). Die Multiplizität der Infektion unterliegt jedoch einer Vielzahl von Einflüssen. Eigene Untersuchungen aus Nordghana zeigten, dass residuelle Chloroquinspiegel bei zwei Dritteln von 797 *P. falciparum*-infizierten Kindern nachzuweisen waren und mit signifikant reduzierter MOI einhergingen. Dies war umso ausgeprägter, je höher die Konzentration des Medikaments war (unveröffentlicht). Ähnliches war zuvor bei ghanaischen Schwangeren beobachtet worden [M13]. In Tansania stieg die Inzidenz der Malaria bei Kindern nach einer Chemoprophylaxe an (Menendez *et al.*, 1997), wofür eine verringerte MOI unter offensicht-

lich insuffizienter Chemoprophylaxe angeschuldigt wurde (Beck *et al.*, 1999). Inwiefern ein solcher Zusammenhang zwischen Multiplizität und Morbidität kausal ist oder die Effekte evtl. auch verdeckter Einflussfaktoren widerspiegelt, bleibt zu klären.

In Gebieten hoher Endemizität der Malaria überwiegen chronisch-persistierende Infektionen niedriger Parasitendichte. Die Malaria-assoziierte Anämie ist dort vorwiegend chronischer Natur (Wickramasinghe & Abdalla, 2000) und MOI hoch (Owusu-Agyei *et al.*, 2002). Inwiefern MOI und Anämie miteinander korrelieren, war Gegenstand mehrerer eigener Untersuchungen. Obwohl bei unterschiedlichen Probandengruppen durchgeführt, legen diese Studien nahe, dass eine hohe Multiplizität der Infektion mit Anämie zumindest assoziiert ist [M6, M14, M18]. Bei asymptomatischen nigerianischen Kindern korrelierten MOI und Hb-Spiegel negativ miteinander. Bei Berücksichtigung der Parasitendichten in multivariater Analyse verlor sich dieser Zusammenhang jedoch [M6]. Dies könnte methodische Ursachen haben, wenn das PCR-Verfahren aufgrund seiner Nachweisgrenze nur solche Infektionen aufdeckt, die eine gewisse Parasitendichte aufweisen. Die Umkehrung der initial positiven Korrelation zwischen Parasitendichte und MOI bei Säuglingen, die im Alter von ein bis zwei Jahren beobachtet wird (Smith *et al.*, 1999a), spricht aber gegen diese Annahme. Es bleibt die Vermutung, dass in diesem Kollektiv der Einfluss einer Splenomegalie, der Parasitendichte und von gemischten Infektionen mit mehreren *Plasmodium* Spp. den Effekt der Multiplizität überstieg. Bei überwiegend afebrilen Schwangeren in Ghana wurde mit zunehmender Parität ein Abfall der Multiplizität der Infektion mit *P. falciparum* und ein Anstieg der Hb-Konzentrationen beobachtet. Erstschwangere wiesen die höchsten Werte für MOI und die grösste Prävalenz von Anämie auf [M14]. Dies ähnelt den Befunden bei Säuglingen, bei denen MOI mit Parasitendichten und klinischer Manifestation korreliert (al-Yaman *et al.*, 1997; Felger *et al.*, 1999; Smith *et al.*, 1999c). Ähnlich wie bei Säuglingen findet bei Erstschwangeren die Auseinandersetzung mit Parasiten statt, deren antigenes Muster mit grosser Wahrscheinlichkeit unbekannt ist (Beeson *et al.*, 1999). Die Kontrolle der Infektion ist unzureichend, es resultiert klinische Manifestation. Mit zunehmender Exposition in weiteren Schwangerschaften, in diesem Falle gegenüber *P. falciparum*-Stämmen mit PfEMP1-Adhäsionseigenschaften gegen Plazentaepithel, kommt es zum graduellen Erwerb spezifischer Immunmechanismen und die Infektion kann zunehmend auf ein niedriges Niveau kontrolliert werden (Brabin, 1983; McGregor, 1984; Fried & Duffy, 1998; Beeson *et al.*, 1999; Reeder *et al.*, 1999; Ricke *et al.*, 2000). Ein signifikanter Zusammenhang zwischen MOI und Anämie bestand bei ghanaischen Frauen nur bis zur dritten Schwangerschaft. In Analogie zu Befunden bei Kindern (Smith *et al.*, 1999a) könnte dies darauf hindeuten, dass ein Zusammenhang zwischen hoher Multipli-

zität und klinischer Manifestation nur solange besteht, bis effiziente Immunmechanismen entwickelt sind. Dies wird durch bislang unveröffentlichte Ergebnisse unterstützt. Bei Primiparae in Ghana war eine plazentare Parasitämie mit mehr als drei Klonen mit einem zwölffachen Risiko einer Frühgeburt assoziiert; mit höherer Parität verlor sich dieser Zusammenhang allmählich. Eindeutigere Ergebnisse erbrachte eine Studie bei 366 nordghanaischen Kindern mit unkomplizierter Malaria [M18]. Eine Anämie war bei diesen auch nach statistischer Berücksichtigung von Parasitendichte und Alter mit niedrigen Hämoglobinkonzentrationen und Anämie assoziiert. Zusätzlich wurden zwei Genotypen identifiziert, die häufiger bzw. seltener bei anämischen Kindern auftraten. Pathophysiologische Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen MOI und Anämie liegen nicht vor. Ursächlich sind zwei Mechanismen denkbar. Zum einen mag eine hohe Multiplizität der Infektion auch ein Ausdruck des kumulativen Erwerbs unterschiedlicher Parasitenklone und damit der Dauer einer Infektion sein. Persistierende und somit polyklonale Infektionen könnten dann zu einem graduellen Abfall der Hb-Werte vor Rekrutierung geführt haben. In einem Umfeld wie dem Studienort mit hoher Transmission sowie hohen Raten von Selbstbehandlung und Medikamentenresistenz [M16, M19] erscheint dies sogar wahrscheinlich. Ein anderer Erklärungsansatz geht dahin, dass ein weites Spektrum unterschiedlicher Parasitenklone mit ihren jeweiligen antigenen Stimuli die Wahrscheinlichkeit immunvermittelter Hämolyse und Zytokin-abhängiger Hemmung der Erythropoese (Menendez *et al.*, 2000a) erhöht. Denkbar ist des Weiteren, dass Kinder mit hereditären Anämien hochkomplexe Infektionen aufweisen oder bestimmte parasitäre Genotypen selektieren und so den beschriebenen Zusammenhang verfälschen. Bei Kindern mit unkomplizierter Malaria in Nordghana besitzen jedoch Hämoglobinopathien wie HbCC oder homozygote α^+ -Thalassämie nur geringen Einfluss auf MOI oder die *msp*-Allele [M21].

Die Merozoitenoberflächenproteine sind an der Invasion des Erythrozyten beteiligt (Goel *et al.* 2003). Möglicherweise beeinflussen *msp*-Varianten die Invasionsrate und damit Parasitendichte und Krankheitsschwere. Tatsächlich wurden zahlreiche Assoziationen zwischen *msp*-Allelfamilien und *msp*-Allelen einerseits und Manifestation andererseits publiziert; in der Gesamtheit sind diese Befunde jedoch uneinheitlich und widersprüchlich (z.B. Robert *et al.*, 1996; Kun *et al.*, 1998a; Arie *et al.*, 2001; Owusu-Okyere *et al.*, 2001). In Nordghana war ein Allel der *msp*-Familie IC mit einer Verdopplung des Risikos einer Anämie vergesellschaftet [M18]. Ob dies einen kausalen Zusammenhang darstellt oder dem eine haplotypische Kopplung zwischen *msp*-Allel und einer PfEMP1-Variante wie in Südamerika beschrieben (Arie *et al.*, 2001) zugrunde liegt, ist unklar. Gleiches gilt für den Befund, dass die Infektion mit *P. falciparum* der *msp*-Familie FC27 bei ghanaischen Schwangeren mit einer Verdopp-

lung des Risikos einer Frühgeburt einherging (unveröffentlicht). Die Klärung der Zusammenhänge zwischen *m*sp-Allelen und MOI mit klinischer Manifestation bedarf weiterführender, vorzugsweise longitudinaler Studien. Dies ist notwendig, um die zugrunde liegenden biochemischen und/oder immunologischen Mechanismen zu verdeutlichen. Darüber hinaus hat dies, im Falle eines kausalen Zusammenhanges, Bedeutung für die Kontrolle der Malaria im Allgemeinen. Interventionen, die die Multiplizität der Infektion reduzieren und somit die Prämunition beeinflussen, können evtl. eine Steigerung der Malaria-Morbidität nach sich ziehen (Beck *et al.*, 1999). Kontrollmassnahmen ohne derartigen Effekt auf MOI, wie vermutlich die intermittierende präventive Behandlung (Schellenberg *et al.*, 2001), wären somit von Vorteil. Bestätigt sich der Zusammenhang zwischen hoher Multiplizität und klinischer Manifestation auf kausaler Ebene, würde allerdings der Schutz vor nachfolgenden Krankheitsepisoden infolge polyklonaler Parasitämie mit deren Beitrag z.B. zur Anämie erkaufte.

6.2.2. Medikamentenresistenz

Die Medikamentenresistenz von *P. falciparum* hat in verschiedener Weise Einfluss auf die Inzidenz und Manifestation der Malaria. Neben in der Realität kaum durchgesetzten Massnahmen wie der breiten Verwendung Insektizid-behandelter Mosquitonetze ist ein Hauptpfeiler aktueller Malaria-Kontrollprogramme die frühzeitige Diagnostik und Therapie Erkrankter (WHO, 2001). Diese fusst auf der Wirksamkeit der eingesetzten Substanzen, die aber in vielen Gebieten Afrikas nicht mehr gegeben ist. Insbesondere die Resistenz gegen die im afrikanischen Kontext finanzierbaren und dort somit fast ausschliesslich verwendeten Substanzen Chloroquin und Sulfadoxin-Pyrimethamin nimmt stetig zu (Mockenhaupt *et al.*, 1997). Infolge dessen wird vielerorts eine sich beschleunigende Abfolge von Behandlung und Therapieversagen beobachtet, die letztendlich zu einem Anstieg der Malaria-bedingten Mortalität in einigen Gebieten Afrikas geführt hat (Trape *et al.*, 2002). Darüber hinaus erwächst aus dem Wechselspiel zwischen den häufigen, residuellen Medikamentenspiegeln bei Bewohnern endemischer Gebiete und der Resistenz der Erreger eine hohe Bedeutung für die Epidemiologie und Manifestation der Malaria. Grundlage weitergehender Analysen ist bei dieser Fragestellung die Erfassung von Prävalenzen resistenter Erreger.

Die Selektion resistenter *P. falciparum* unter nicht-kurativer Behandlung oder durch residuelle Medikamentenspiegel ist in mehreren Studien sowohl für Chloroquin als auch für Sulfadoxin-Pyrimethamin gezeigt worden (Curtis *et al.*, 1996; Plowe *et al.*, 1996; Duraisingh *et al.*, 1997; Djimde *et al.*, 2001). Ob dabei erst die Resistenz-vermittelnde Mutation induziert

wird oder aber sich eine vorbestehende resistente Minoritätspopulation ausbreiten kann, ist ungeklärt. Selektion von resistenten *pfmdr1* und/oder *pfert* Genotypen durch residuelle Chloroquinspiegel wurde in Nigeria (May & Meyer, 2003), bei ghanaischen Schwangeren [M13], und bei Kindern in Nordghana [M19] beobachtet. Häufigeres Auftreten von Parasiten mit *pfdhfr* Varianten wurde bei ghanaischen Schwangeren mit Pyrimethamin im Urin festgestellt [M12, M13]. Die eigenen Ergebnisse sind aber insofern uneinheitlich, als dass die mit Pyrimethamin-Resistenz einhergehende Variante *pfdhfr* N108 bei Isolaten von Kindern im ländlichen Abanla in Nigeria in 41%, Pyrimethamin im Urin aber nur in 4% beobachtet wurde. Der Anteil resistenter Erreger fiel mit zunehmendem Alter ab [M5]. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen May & Meyer (2003) hinsichtlich der *pfert* T76 Mutation. Diese Befunde verwundern zunächst, da es keine Hinweise auf eine Immunogenität der codierten Proteine und eine dadurch verursachte, altersabhängige Kontrolle der entsprechenden Erreger gibt. Im Falle der *pfert* T76 Mutation liegt die Erklärung für ihr geringeres Vorkommen bei Isolaten älterer Kinder im selteneren Nachweis von Chloroquin mit zunehmendem Alter [M7]. Daraus lässt sich einerseits eine häufigere Behandlung junger Kinder ableiten (siehe auch 6.1.1). Andererseits zeigt dieser Befund, dass der geringere Therapieerfolg von z.B. Chloroquin bei jüngeren Kindern [M16] nicht nur von der unzureichend entwickelten Semi-Immunität abhängen kann, sondern auch von einer höheren Rate resistenter Erreger. Der altersabhängige Rückgang Pyrimethamin-resistenter Isolate [M5] ist weniger einleuchtend. Pyrimethamin findet als Einzelsubstanz ausser zur Prophylaxe bei Schwangeren in Ghana keine Verwendung. Sein Nachweis spricht daher eher für die Verwendung des Kombinationspräparats Sulfadoxin-Pyrimethamin. Cotrimoxazol (Trimethoprim-Sulfamethoxazol) ist in Afrika eines der häufig verwendeten Antibiotika für Infektionen des Respirationstrakts (Echave *et al.*, 2003). Die höhere Inzidenz bronchitischer oder pneumonischer Erkrankungen bei jungen Kindern könnte sich in einem entsprechenden Muster der Einnahme von Cotrimoxazol widerspiegeln. Hinweise auf Kreuzresistenz zwischen Pyrimethamin und Trimethoprim stammen aus *in vitro*-Studien (Petersen, 1987). Inwiefern Cotrimoxazol die *pfdhfr* N108 Hauptmutation zu selektieren vermag, ist abschliessend nicht geklärt (Jelinek *et al.*, 1999; Iyer *et al.*, 2001; Khalil *et al.*, 2003). Ein solcher Vorgang könnte allerdings der Altersabhängigkeit der *pfdhfr* N108 Mutation bei nigerianischen Isolaten zugrunde liegen. Eine weitere Erklärung ist trotz des seltenen Nachweises von Pyrimethamin eine häufigere Einnahme von Sulfadoxin-Pyrimethamin bei jungen Kindern. Mit dem in der nigerianischen Studie verwendeten Verfahren kann Pyrimethamin für die Dauer von ca. drei Wochen nach Einnahme einer therapeutischen Dosis Sulfadoxin-Pyrimethamin nachgewiesen werden (Eggelte, 1990). *P. falciparum* vermag dagegen für Mo-

nate in einem Wirt zu persistieren (Babiker *et al.*, 2000). Denkbar ist daher eine Selektion resistenter und in Folge persistierender Erreger zu einem Zeitpunkt weit vor der Rekrutierung der Probanden. Inwieweit dies auch für die sehr hohe Prävalenz von *pf dhfr* Dreifachmutationen von 51% bei Kindern aus Tamale, Nordghana [M20], zutrifft, ist Gegenstand laufender Untersuchungen. Ein derartiger Genotyp wird als hinreichend prädiktiv für das Auftreten von Therapieversagen von Sulfadoxin-Pyrimethamin erachtet (Nzila *et al.*, 2000). Das Kombinationspräparat wird in Nordghana sehr selten eingesetzt; unveröffentlichte Untersuchungen zeigen, dass Pyrimethamin bei weniger als fünf Prozent der Kinder in dieser Region nachgewiesen werden kann.

Bei Isolaten von Schwangeren in Ghana traten die *pfmdr1* und *pfert* Hauptmutationen überzufällig häufig mit der *pf dhfr* N108 Variante zusammen auf [M13]. Dieser Zusammenhang war unabhängig vom Nachweis von Pyrimethamin oder Chloroquin. Dieser Befund einer Querschnittstudie entzieht sich einer einfachen Interpretation. Wie weiter oben angemerkt, kann dem die Selektion durch zum Zeitpunkt der Untersuchung nicht mehr nachweisbare Medikamentenspiegel zugrunde liegen. Allerdings bestehen auch phänotypische Hinweise auf die Möglichkeit einer Kreuzresistenz zwischen den Medikamenten. So konnte in frühen Studien im Maus-Modell Chloroquin-Resistenz in Pyrimethamin-resistenten nicht aber -sensiblen Parasiten selektiert werden (Powers *et al.*, 1969). *In vitro* zeigten Chloroquin-resistente *P. falciparum*-Isolate aus Kamerun eine um den Faktor 10 erniedrigte Sensibilität gegenüber Pyrimethamin als Chloroquin-sensible Erreger (Ringwald *et al.*, 1999). Ein Zusammenhang zwischen der Resistenz gegenüber Chloroquin mit der gegenüber Pyrimethamin oder Sulfadoxin-Pyrimethamin hätte erhebliche Konsequenzen. Sollte sich dieser bestätigen, würde die Chloroquin-Resistenz gleichsam den Weg für die Verbreitung von Resistenz gegen Sulfadoxin-Pyrimethamin ebnet, eine der letzten finanzierbaren therapeutischen Optionen in Afrika. Indirekt unterstützt wird diese Befürchtung durch Arbeiten von Rathod *et al.* (1997). Diese Autoren zeigten, dass vorbestehend resistente Parasiten Resistenz gegen strukturell nicht verwandte Substanzen deutlich schneller entwickeln als initial sensible Erreger. Die genetische Grundlage dieses Vorgangs ist unklar; eine allgemein erhöhte Mutationsrate wird aber postuliert.

Die Typisierung der *P. falciparum*-Isolate von ghanaischen Schwangeren erbrachte auch Hinweise zur biologischen Bedeutung parasitärer Medikamentenresistenz. Die Einnahme von Pyrimethamin zur Chemoprophylaxe reduzierte die Prävalenz von *P. falciparum* um 16% und die von Anämie um 14% [M12]. Diesem kaum wesentlichen prophylaktischen Effekt stand gegenüber, dass alle Isolate von Frauen mit durchgeführter Chemoprophylaxe die

pfdhfr Hauptmutation N108 aufwiesen. Weitere Mutationen an den Codons 51 und 59 gingen bei diesen Frauen mit einem Trend für geringere Hämoglobinspiegel einher. Obwohl statistisch nicht signifikant, zeigt dieser Befund den Zusammenhang zwischen Resistenzgrad und klinischer Manifestation in Anwesenheit von Medikamentenspiegeln. In ähnlicher Weise beeinflusste das Resistenzmuster von *P. falciparum* den Effekt residueller Medikamentenspiegel auf die Multiplizität der Infektion. MOI war bei Schwangeren mit nachweisbaren Chloroquin-spiegeln nur dann reduziert, wenn *pfcr*t und *pfmdr*1 Wildtyp-Erreger vorlagen; bei resistenten Parasiten war dies nicht zu beobachten [M13]. Die Bedeutung für eine Beeinflussung der Prämunition durch die Interaktion von Medikamentenspiegeln und parasitärer Resistenz ist Gegenstand laufender Untersuchungen bei Kindern in Nordghana.

Die klinische Relevanz parasitärer Medikamentenresistenz zeigt sich letztlich unter Therapie. Bei einer Studie zur Wirksamkeit von Chloroquin in der Behandlung von Kindern mit unkomplizierter Malaria tropica in Tamale, Nordghana, wurde klinisches Therapieversagen in 29%, Persistenz oder Wiederauftreten von Parasitämie in 57% beobachtet. Junges Alter und hohe initiale Parasitenlast disponierten für einen Behandlungsmisserfolg [M16]. Unveröffentlichte Untersuchungen zeigten, dass das Risiko eines Therapieversagens bei Vorliegen von *P. falciparum* mit der *pfcr*t T76 Mutation um das Fünffache gesteigert war. Kombination von *pfcr*t T76 und *pfmdr*1 Y86 erhöhte den Vorhersagewert. Die Ratio zwischen der Häufigkeit von Therapieversagen und der Prävalenz von *pfcr*t T76 betrug 2,8. Dieser „Genotyp-Resistenz-Index“ kann verwendet werden, um eine grössere Zahl von Parasitenisolaten aus der Region zu typisieren und die Verbreitung von Chloroquin-Resistenz abzuschätzen. Die Ergebnisse der Typisierung von *P. falciparum* *pfcr*t T76 bei 2100 Kindern in Nordghana zeigten, dass Therapieversagen von Chloroquin in 19%-32% erwartet werden kann. Während erhebliche Unterschiede in der Prävalenz resistenter Erreger und im Nachweis von Chloroquin im Blut zwischen den einzelnen Ortschaften zu verzeichnen waren, unterschieden sich diese Parameter zwischen Trocken- und Regenzeit nicht wesentlich (unveröffentlicht). Die Weltgesundheitsbehörde erachtet einen Anteil von mehr als 25% Therapieversagen (ETF, LTF) als Indiz für die Notwendigkeit, ein alternatives Medikament für die Initialbehandlung (*first line treatment*) der Malaria einzuführen (Bloland *et al.*, 1998). Dieser Grenzwert ist in Tamale und in den meisten der ausgewählten Ortschaften in der Northern Region von Ghana überschritten. Die weitere Verwendung von Chloroquin wird zwangsläufig das Ausmass an Resistenz verschärfen und mit einer steigenden Morbidität und Mortalität verbunden sein. Daher wird empfohlen, die Indikation zum Wechsel der Initialbehandlung grosszügig und frühzeitig zu stellen (Bloland *et al.*, 1998). In Kenia wurden ca. zehn Jahre benötigt, um nach Erkennen

einer inakzeptabel weiten Verbreitung von Chloroquin-Resistenz Sulfadoxin-Pyrimethamin landesweit als Mittel der Wahl für die Behandlung der unkomplizierten Malaria einzuführen (Shretta *et al.*, 2000).

6.3. Hereditäre Wirtsfaktoren und Schutz vor der Malaria tropica

6.3.1. α^+ -Thalassämie

J. Haldane schrieb 1949: „*The corpuscles of the anaemic heterozygote are smaller than normal, and more resistant to hypotonic solution. It is at least conceivable that they are also more resistant to attacks by the sporozoa which causes malaria*“. Zwar bezog er sich dabei auf die im Mittelmeerraum verbreitete β -Thalassämie. Ungeachtet dessen legte er den Grundstein für das später als Malaria-Hypothese bekannt gewordene Postulat, nach dem bestimmte humangenetische Polymorphismen positiver Selektion durch die Malaria unterliegen. Im Falle der α^+ -Thalassämie konnte die Malaria-Hypothese lange Zeit nicht bestätigt werden. Ursache dafür ist primär die klinische und hämatologische Inapparenz der häufigen milden Formen dieser Disposition. Erst mit der Verfügbarkeit molekularbiologischer Methoden wurde die extrem hohe Prävalenz in Südostasien (Flint *et al.*, 1986; Williams *et al.*, 1996; Allen *et al.*, 1997; Flint *et al.*, 1998) und in Afrika (Allen *et al.*, 1993; Lell *et al.*, 1999; **M1**, **M2**, **M9**, **M21**, **M25**) offenbar.

Die Korrelation zwischen der Genfrequenz der α^+ -Thalassämie und der Malaria-Endemizität wurde erstmals in Melanesien beschrieben (Flint *et al.*, 1986). Dies mag durch den Umstand erleichtert worden sein, dass dort die Bewohner isolierter Inselgruppen mit unterschiedlicher Endemizität untersucht wurden. In einer ähnlichen Situation relativer Isolation, in Sardinien, wurde gezeigt, dass der G6PD-Mangel in seiner Häufigkeit dem ehemaligen Verbreitungsgebiet der Malaria folgt (Sanna *et al.*, 1990). Eine solche Korrelation konnte bislang für die α^+ -Thalassämie auf dem afrikanischen Kontinent nicht aufgestellt werden. Zwar zeigt sich eine Zunahme der Genfrequenzen von Gambia über Ghana und Nigeria nach Gabun (Allen *et al.*, 1993; Lell *et al.*, 1999; **M1**, **M9**); dies spiegelt jedoch nicht eine dementsprechend steigende Endemizität wider. Auch unterscheidet sich die Genfrequenz zwischen dem holoendemischen Süden Ghanas und dem hyperendemischen Norden nur unwesentlich [**M9**, **M25**]. Die sehr viel höhere Prävalenz der α^+ -Thalassämie in Melanesien als in Afrika verwundert, da unter der Annahme einer Selektion durch die Malaria und aufgrund der höheren

Endemizität und Mortalität in Afrika eine spiegelbildliche Verteilung zu erwarten wäre. Dies verweist auf weitere mögliche Ursachen der hohen Genfrequenzen in Südostasien. Darüber hinaus bestehen deutliche Unterschiede in der Epidemiologie der Malaria zwischen den beiden Regionen. In Vanuatu, Melanesien, treten *P. falciparum* und *P. vivax* etwa gleich häufig, aber saisonal versetzt auf. Der Altersgipfel der Infektion mit *P. vivax* liegt niedriger als der von *P. falciparum* (Maitland *et al.*, 1997). *P. vivax* befällt bevorzugt junge Erythrozyten und Retikulozyten. Bestimmungen von sTfR in Vanuatu legen nahe, dass α^+ -thalassämische Kinder eine höhere erythropoetische Aktivität und damit einen höheren Anteil junger Erythrozyten aufweisen (Rees *et al.*, 1998). Die theoretisch daraus erwachsene höhere Anfälligkeit für *P. vivax* wurde bei α^+ -thalassämischen Kindern in dieser Region bis zum Alter von ca. zwei Jahren beobachtet (Williams *et al.*, 1996). In Afrika, insbesondere im Westen des Kontinents, ist *P. falciparum* der dominierende Erreger, *P. vivax* eine Rarität. Der nahe verwandte Erreger *P. ovale* erreicht nur selten Prävalenzen von über 5% (Faye *et al.*, 2002). Die aus den Studien in Vanuatu abgeleitete Hypothese einer erhöhten Empfänglichkeit α^+ -thalassämischer Kinder für die Infektion mit *P. vivax*, der induzierten partiellen Kreuzimmunität gegen *P. falciparum*, und der dadurch verursachten geringeren Morbidität und Mortalität der Malaria tropica (Williams *et al.*, 1996; Maitland *et al.*, 1997), kann folglich in Afrika nicht zutreffen. Dennoch konnten wir erstmals zeigen, dass die α^+ -Thalassämie in Afrika einen Schutz vor schwerer Malaria vermittelt, der dem durch z. B. HbAS ähnelt [M25] aber geringer ist als der in Vanuatu beschriebene (Allen *et al.*, 1997). In Ghana wurde zudem kein protektiver Effekt der homozygoten Anlage beobachtet. Die wahrscheinlichste Erklärung liegt in ihrer relativen Seltenheit von ca. 4%, die selbst bei einer Kontrollgruppe von mehr als 2000 Kindern zu einer Verzerrung evtl. bestehender Assoziationen führen kann.

Relativer Schutz vor der Malaria kann sich auf verschiedenen Ebenen manifestieren, u. a. als Schutz vor der Infektion *per se*, vor hohen Parasitendichten, vor den klinischen Ausprägungen und schliesslich vor der Letalität schwerer Malaria. In Übereinstimmung mit anderen Untersuchern (Oppenheimer *et al.*, 1986; Allen *et al.*, 1993; Allen *et al.*, 1997; Lell *et al.*, 1999) wurde bei den verschiedenen eigenen Studien kein Effekt der α^+ -Thalassämie auf die Prävalenz der Infektion mit *P. falciparum* oder auf die Parasitendichten festgestellt [M2, M9, M21, M25]. Das von Oppenheimer *et al.* (1986) beobachtete, geringere Ausmass einer Malaria-Anämie bei α^+ -thalassämischen Kindern konnte in Nigeria nur bedingt nachvollzogen werden. Zwar ging die Infektion mit *P. falciparum* bei homozygoten Kindern ohne Reduktion der Hb-Konzentrationen einher. Statistisch signifikant wurde dieser Zusammenhang jedoch

nur für Kinder mit Mikrozytose, dem charakteristischen aber nicht spezifischen Symptom der α^+ -Thalassämie [M2]. Untersuchungen bei ghanaischen Schwangeren mit α^+ -Thalassämie bestätigten aber letztlich die Vorarbeiten von Oppenheimer *et al.* (1986). Diese mildere Manifestation der *P. falciparum*-Infektion bei unveränderter Anfälligkeit für Parasitämie kann verschiedene Ursachen haben. Neben verminderter Multiplikationsrate (Pattanapanyasat *et al.*, 1999), erhöhter Anfälligkeit gegenüber oxidativem Stress (Senok *et al.*, 1998) und gesteigerter Phagozytose infolge modifizierter Neoantigen-Expression (Yuthavong *et al.*, 1988; Luzzi *et al.*, 1991) ist die Selektion benigner bzw. den Krankheitsverlauf modifizierender Parasitenstämme eine mögliche Erklärung. Die in Melanesien beobachtete erhöhte Anfälligkeit gegenüber *P. vivax* wird dem erhöhten Anteil junger Blutzellen bei der α^+ -Thalassämie zugeschrieben (Rees *et al.*, 1998). Die α^+ -thalassämischen Erythrozyten weisen jedoch auch biochemische und physiologische Merkmale gealterter Zellen auf (Schrier *et al.*, 1989; Wilairat *et al.*, 1992; Williams *et al.*, 2002). *P. malariae* befällt vorzugsweise kleine und gealterte Erythrozyten (Garnham, 1966). Tatsächlich wurde bei ghanaischen Schwangeren mit α^+ -Thalassämie eine signifikante Häufung von *P. malariae* beobachtet. Nach Ausschluss von Frauen mit residuellen Medikamentenspiegeln war dies umso deutlicher [M11]. Ursächlich könnte dem eine erhöhte Dichte bislang nicht identifizierter Rezeptoren für die Invasion von *P. malariae* auf den veränderten Membranen α^+ -thalassämischer Erythrozyten zugrunde liegen. Neben der Häufung von *P. malariae* wiesen α^+ -thalassämische Schwangere eine reduzierte Rate von Fieber und inflammatorischer Reaktion auf [M11]. Da die vorangegangene oder simultane Infektion mit *P. malariae* die Manifestation der Malaria tropica mildern kann (Black *et al.*, 1994; Collins & Jeffery, 1999), ist eine mögliche Ursache milderer Manifestation bei α^+ -thalassämischen Individuen eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber diesem Erreger. Allerdings konnte dies bei Kindern in Nordghana nicht bestätigt werden [M25]. Da zumindest in Nigeria die Infektion mit *P. malariae* ein Risikofaktor für eine Anämie war [M6], ist es unwahrscheinlich, dass die Selektion dieses Erregers mit der milderen Ausprägung der Malaria-Anämie bei α^+ -thalassämischen Infizierten einhergeht. Eine gesteigerte Erythropoese (Rees *et al.*, 1998) mit nachfolgend erhöhtem Ersatz hämolysierter Erythrozyten konnte bei α^+ -thalassämischen Kindern nicht bestätigt werden [M4].

Obwohl pathogenetisch von nicht gesicherter Bedeutung (s. 6.2.1.), kann die Verteilung von parasitären *msp1*- und *msp2*-Genotypen Auskunft über eine mögliche Selektion bestimmter Varianten von *P. falciparum* bei α^+ -thalassämischen Infizierten geben. Bei Kindern in Nordghana traten *P. falciparum* vom Typ *msp1* Mad20 signifikant seltener, solche vom

Typ *msp2* IC signifikant häufiger auf als bei nicht-thalassämischen Kindern. Insgesamt überstieg der Einfluss der α^+ -Thalassämie auf die Populationsstruktur von *P. falciparum* den von HbAS oder HbAC [M21]. Ob dies einer bevorzugten Infektion durch weniger virulente Parasiten entspricht, ist unklar. Dies kann erst nach der noch abzuschliessenden Typisierung von Isolaten von Patienten mit milder bzw. schwerer Malaria beantwortet werden.

Die *in vitro* beobachtete verringerte Wirksamkeit von Chloroquin gegenüber *P. falciparum* in α^+ -thalassämischen Erythrozyten (Yuthavong *et al.*, 1989) konnte trotz der Einschränkungen einer Querschnittstudie in Nigeria nachvollzogen werden [M10]. Bei Kindern mit Chloroquin im Blut und trotz vergleichbarer Konzentrationen hatten α^+ -thalassämische Probanden signifikant seltener submikroskopische Infektionen aber häufiger hohe Parasitämien als nicht-thalassämische. Dieser Befund kann durchaus epidemiologische Relevanz besitzen. Eine verminderte Wirksamkeit von Chloroquin bei Vorliegen einer α^+ -Thalassämie kann in einem Kontext aus wiederholter, oftmals subkurativer Behandlung und weit verbreiteter Resistenz [M7, M19] zu einer erhöhten Inzidenz der Malaria bei Kindern mit dieser Disposition führen. Dies hätte wiederum eine erhöhte Frequenz von Eigenbehandlung zur Folge, was u. a. den häufigeren Nachweis von Chloroquin bei α^+ -thalassämischen Kindern erklären könnte [M10]. Alternativ ist eine verlängerte Eliminationshalbwertszeit bei der α^+ -Thalassämie, wie sie für Artesunat gezeigt wurde, denkbar. Auch kommt eine vermehrte Akkumulierung von Chloroquin in nicht-infizierten, α^+ -thalassämischen Erythrozyten (S. Kamchongwongpaisan & Y. Yuthavong, persönliche Mitteilung) in Frage. Eine reduzierte suppressive Wirksamkeit des Chloroquin bei α^+ -thalassämischen Individuen in Kombination mit der massenhaften Anwendung dieser Substanz könnte zudem der Selektion und Verbreitung resistenter *P. falciparum* Vorschub leisten. Letztlich kann nicht ausgeschlossen werden, dass die hohe Verbreitung residueller Chloroquinpiegel bei den Bewohnern endemischer Gebiete [M9, M13, M19] Einfluss auf die Wechselwirkungen zwischen der Malaria und der α^+ -Thalassämie hat und wohlmöglich den durch die Hämoglobinopathie vermittelten Vorteil aufheben kann.

6.3.2. Hämoglobin S und C

In Ghana treten sowohl HbS als auch HbC in polymorphen Frequenzen auf. Im südlichen Regenwaldgebiet des Landes erreichen HbAS und HbAC Prävalenzen von 14% bzw. 7%; im Norden sind es 5% bzw. 21% [M9, M21]. Dies deutet auf einen graduellen Ersatz von HbC

durch HbS vom Norden Westafrikas nach Süden hin, wie er zuvor vermutet wurde (Edington & Laing, 1957). Die Selektion von HbS infolge eines Schutzes vor der Malaria ist weitgehend akzeptiert (Allison, 1954a; 1954b; Gilles *et al.*, 1967; Hill *et al.*, 1991; Lell *et al.*, 1999; Aidoo *et al.*, 2002). Ein Schutz vor schwerer Malaria durch HbAC oder HbCC wurde dagegen erst kürzlich in Mali (Agarwal *et al.*, 2000) und Burkina Faso (Modiano *et al.*, 2001) beobachtet und in Nordghana bestätigt [M23].

Die Ursachen für die Begrenzung von HbC auf das nördliche Westafrika sind unklar. Eine einfache Erklärung wäre eine, im evolutionären Sinne, erst kürzlich stattgehabte β^c -Mutation; es liegen jedoch keine diesbezüglichen Daten vor. In Burkina Faso wiesen Kinder mit HbAC eine Reduktion des Risikos schwerer Malaria auf, die dem durch HbAS vergleichbar ist (Modiano *et al.*, 2001). Dem daraus resultierenden ähnlichen Überlebensvorteil des Heterozygoten steht allerdings die erhebliche Pathologie und eingeschränkte Lebenserwartung bei Sichelzellanämie (Allison, 1956; Diggs, 1973) entgegen. Aufgrund dieser Konstellation wurde vorgeschlagen, dass HbC auf lange Sicht HbS ersetzen könnte (Modiano *et al.*, 2001). Die eigenen Ergebnisse zeigen jedoch, dass in Ghana der Schutz vor schwerer Malaria durch HbAS (90%) den durch HbAC (47%) deutlich übersteigt. Im direkten Vergleich war das Risiko schwerer Malaria bei Kindern mit HbAS um 83% gegenüber Kindern mit HbAC reduziert [M23]. Inwieweit dieser deutliche Vorteil durch die verminderte Lebenserwartung bei HbSS unterlaufen wird, konnte im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie nicht beantwortet werden. Die Ergebnisse aus Ghana sprechen jedoch gegen einen klaren Selektionsvorteil von HbC gegenüber HbS.

Beim Vergleich der Ergebnisse der Fall-Kontroll-Studien zum Schutz vor schwerer Malaria durch HbAC muss die Wahl der Kontrollgruppe berücksichtigt werden. Die Risikoreduktion von 47% in unserer Studie in Ghana bezieht sich auf eine Kontrollgruppe von asymptomatisch-parasitämischen Kindern. In Mali lag dieser Wert bei 75% im Vergleich zu Kindern mit unkomplizierter Malaria (Agarwal *et al.*, 2000). In Burkina Faso ergab sich ein um 29% verringertes Risiko für klinische Malaria im Vergleich zu Populationskontrollen (Modiano *et al.*, 2001). Die Konfidenzintervalle der Risikoschätzer dieser drei Studien überlappen jedoch. Bei Kindern mit unkomplizierter Malaria aus Tamale wurde HbAC in 20,8% beobachtet [M21]. Vergleicht man diese Prävalenz mit der bei Kindern mit schwerer Malaria (16.6%), resultiert eine Risikoreduktion von 31% (Odds ratio, 0.69 (0.5-1.0)). Ungeachtet der offenkundigen Einschränkungen einer solchen Analyse, bestätigt dies die Befunde der Fall-Kontroll-Studie. Während in Mali und Burkina Faso die zerebrale Malaria die hauptsächliche Manifestationsform der schweren *P. falciparum*-Infektion darstellt (Agarwal *et al.*, 2000;

Modiano *et al.*, 2001), ist dies in Nordghana die schwere Anämie [M22]. Wir konnten zeigen, dass HbAC auch in einem solchen klinisch-epidemiologischen Zusammenhang protektiv wirkt. Zudem ergaben sich Hinweise auf Schutz vor schwerer Schwäche (*prostration*), wiederholten Krampfanfällen, und letztlich Malaria-assoziiertes Sterblichkeit. Statistisch sind diese Zusammenhänge signifikant, wenn ein Effekt von HbAC als gesichert vorausgesetzt wird.

Neben reduzierter Parasitenreife sowie modifizierter Neoantigen-Expression und Zytoadhärenz (Fairhurst *et al.*, 2003) könnte die Selektion relativ avirulenter Stämme von *P. falciparum* dem milderen klinischen Verlauf bei Kindern mit HbAC zugrunde liegen. Eigene Untersuchungen bei Kindern mit unkomplizierter Malaria zeigten jedoch, dass das parasitäre Genotypmuster und die Multiplizität der Infektion von der Hämoglobinvariante weitestgehend unabhängig sind [M21]. Vorläufige Ergebnisse der Untersuchung von über eintausend, vorwiegend asymptomatischen Kindern aus Nordghana weisen auf eine Häufung von *P. ovale* bei Vorliegen von HbAC hin (9% vs. 4% bei HbAA). Eine Selektion von *P. ovale* bei Kindern mit HbAS, wie im Senegal beschrieben (Faye *et al.*, 2002), konnte jedoch nicht beobachtet werden. Da Infektionen mit *P. ovale* mit reduzierten Parasitendichten nachfolgender *P. falciparum*-Infektionen assoziiert sind (Jeffery, 1966; Collins & Jeffery, 1999), könnte dies zum Schutz vor schwerer Malaria durch HbAC beitragen.

Weitere, ebenfalls unveröffentlichte Befunde zur Bedeutung von HbAC ergeben sich aus der Analyse der Wirksamkeit von Chloroquin bei unkomplizierter Malaria [M16]. Dabei zeigt sich, dass HbAC mit einer 75%-igen Reduktion des Risikos eines frühen Therapieversagens assoziiert war. In Kenia erzielten Chloroquin und Sulfadoxin-Pyrimethamin bessere Erfolge bei Kindern mit HbAS als bei solchen mit HbAA (Brandling-Bennett *et al.*, 1988, Terlouw *et al.*, 2002). Die fehlende Bestätigung in Nordghana ist wahrscheinlich durch die geringere Prävalenz dieser Anlage verursacht. Die Ursache der besseren Wirksamkeit von Chloroquin bei Patienten mit HbAC ist gegenwärtig unklar. Denkbar ist ein Beitrag der protektiven Disposition im Sinne einer beschleunigten Parasiteneliminierung als auch eine modifizierte intraerythrozytäre Akkumulierung des Medikaments, wie sie für Chloroquin und Artemisinin bei anderen Hämoglobinopathien beschrieben wurde (Orjih *et al.*, 1987; Yuthavong *et al.*, 1989; Kamchongwongpaisan *et al.*, 1994).

Weder HbAS noch HbAS ging bei Schwangeren mit einer reduzierten Prävalenz von *P. falciparum* oder einer gemilderten klinischen Manifestation einher. Schwangere mit der Sichelzellanlage zeigten sogar signifikant erhöhte Parasitendichten [M9]. Dies steht im Gegensatz zu älteren Arbeiten aus Nigeria, bei denen Erstschwangere mit HbAS sowohl eine

geringere Infektionsprävalenz als auch niedrigere Parasitendichten als Schwangere mit HbAA aufwiesen (Fleming *et al.*, 1984). Andere Untersuchungen konnten dies allerdings nicht bestätigen (Brabin & Perrin, 1985; van Dongen & van't Hof, 1993). In einer weiteren Studie zur Eisensupplementierung in der Schwangerschaft wurde eine erhöhte Rate plazentarer Malaria bei Sichelzellanlageträgerinnen beobachtet. Dies war in der Placebo-Gruppe nicht der Fall, woraus gefolgert wurde, dass HbAS-vermittelte Immunmechanismen durch die Eisengabe beeinflusst wurden (Menendez *et al.*, 1995). Unter Berücksichtigung der durchweg hohen Ferritin-Spiegel in der ghanaischen Studiengruppe, könnte dies eine Erklärung für den Befund erhöhter Parasitendichten bei HbAS darstellen. Unveröffentlichte Untersuchungen bei 801 Gebärenden zeigen jedoch, dass HbAS und HbAC mit einer jeweils ca. 50%-igen Reduktion des Risikos einer plazentaren Malaria und erniedrigten plazentaren Parasitendichten einhergehen. Die Ursache für die Diskrepanz zwischen den Befunden bei Schwangeren (1998) und denen bei Gebärenden (2000) ist unklar. In der Gruppe der Gebärenden könnten spezifische Immunmechanismen infolge der längeren Schwangerschaftsdauer stärker ausgeprägt (O'Neill-Dunne *et al.*, 2001) sein. Auch liegt nahe, dass die höhere Sensitivität des Erregernachweises bei der Mikroskopie plazentarer Präparate [M15] am beobachteten Unterschied zu Schwangeren aller Gestationsalter beteiligt ist; für die periphere Parasitämie bestehen die Befunde zur plazentaren Malaria lediglich als Trend.

6.3.3. Glukose-6-Phosphat Dehydrogenase Mangel

Der G6PD-Mangel ist die häufigste Enzymopathie des Menschen. In Ghana wurde das Defizientallel A- bei 33% schwangerer Frauen beobachtet [M17]. Diese sehr hohe Prävalenz legt wiederum eine Selektion infolge eines Schutzes vor der Malaria nahe. Die Ergebnisse älterer Untersuchungen sind jedoch uneinheitlich und widersprüchlich (Übersicht bei Ruwende & Hill, 1998). Aus einer eigenen Fall-Kontroll-Studie bei über 2400 Kindern in Nordghana ergibt sich kein Hinweis auf einen Schutz vor schwerer Malaria oder asymptomatischer Parasitämie (unveröffentlicht). Ebenso wenig hatte der G6PD-Status einen Einfluss auf das Risiko einer *P. falciparum*-Infektion bei Kindern in Nigeria (unveröffentlicht). Bei ghanaischen Schwangeren dagegen zeigte sich eine Reduktion in der Infektionshäufigkeit, die insbesondere bei Multiparae und hohem Gestationsalter zum Tragen kam [M17]. Fraglich ist, warum ein G6PD-Mangel keinen Schutz vor der Infektion mit *P. falciparum* bei Kindern wohl aber bei Schwangeren vermittelt. Wohlmöglich liegt eine Ursache in der Besonderheit schwanger-

schaftsspezifischer Immunmechanismen. *P. falciparum*-infizierte, G6PD-defiziente Erythrozyten binden höhere Mengen von autologen IgG und werden in einer höheren Masse phagozytiert als normale, infizierte Erythrozyten. Diese verstärkte Immunerkennung schon zu einem frühen Zeitpunkt im parasitären Zyklus im Zusammenspiel mit der erhöhten oxidativen Schädigung G6PD-defizienter Zellen und folgender Eliminierung könnte die Parasitenreifung und –multiplikation hemmen (Cappadoro *et al.*, 1998). Dies wäre auch bei infizierten, G6PD-defizienten Kindern zu erwarten. Schwangere aber werden bevorzugt von *P. falciparum* infiziert, die bestimmte PfEMP1-Varianten exprimieren (Beeson *et al.*, 1999; Reeder *et al.*, 1999; Rowe *et al.*, 2002). Antikörper mit Spezifität gegen dieses Antigen werden im Verlauf mehrerer Schwangerschaften erworben (Fried *et al.*, 1998; Beeson *et al.*, 1999; Ricke *et al.*, 2000). Neuere Untersuchungen zur Kinetik PfEMP1-spezifischer Antikörper bei Schwangeren zeigen zudem, dass diese bei Multiparae zu einem früheren Zeitpunkt als bei Primiparae gebildet werden (O'Neill-Dunne *et al.*, 2001). In diesem Zusammenhang könnte eine gesteigerte Immunerkennung infolge modifizierter Neoantigen-Expression bei G6PD-Mangel erklären, warum ein Schutz nur bei G6PD-defizienten Multiparae zu beobachten war. Zwar tritt eine durch den G6PD-Mangel vermittelte, modifizierte Expression parasitären Antigens in der Erythrozytenmembran mit grosser Wahrscheinlichkeit schon bei Erstschwangeren auf. Die dadurch induzierte, und eventuell verstärkte, Immunantwort wirkt sich wahrscheinlich jedoch erst am Ende einer Schwangerschaft bzw. in nachfolgenden Schwangerschaften aus. Diese Hypothese wird durch die Begrenzung des G6PD-vermittelten Effekts auf das letzte Trimenon [M17] unterstützt.

6.3.4. Promoterpolymorphismen

Die Untersuchungen zu möglichen Zusammenhängen zwischen Promoterpolymorphismen von TNF- α und IL-10 und der Malaria sind zum Zeitpunkt der Niederschrift dieser Arbeit nicht abgeschlossen. Bisherige Ergebnisse der Fall-Kontroll-Studie zeigen, dass Homozygotie für TNF_{-308A} am Häufigsten in der Gruppe nicht-infizierter Kinder auftrat (4,2%), seltener bei parasitärischen Kindern (1,7%), und kaum bei Patienten mit schwerer Malaria (0,6%). Daraus ergibt sich eine ca. 80%-ige Reduktion des Risikos schwerer Malaria für nicht-infizierte Kinder mit dem homozygoten TNF_{-308A} Allel. Für die Polymorphismen TNF_{-238A}, TNF_{-376A} und IL-10_{-1082G/A} wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen der Kinder beobachtet. Bei Kindern mit schwerer Malaria bestanden jedoch Zusammenhänge zwischen diesen und den Manifestationsformen der Infektion. So war Heterozygotie für IL-10_{-1082G/A}

mit einer signifikanten Reduktion von Anämie, Heterozygotie für TNF_{-238A} mit einem diesbezüglich sechsfach erhöhten Risiko assoziiert.

Im direkten Widerspruch zu früheren Arbeiten (McGuire *et al.*, 1994) steht das seltenere Auftreten des homozygoten TNF_{-308A} Allels bei schwerer Malaria. TNF_{-376A} trat zwar ausschliesslich in Kopplung mit TNF_{-238A} auf, war aber weder mit schwerer Malaria *per se* noch mit zerebraler Manifestation assoziiert, wie dies zuvor beschrieben wurde (Knight *et al.*, 1999). Bestätigt wurde dagegen in Ghana der Zusammenhang zwischen TNF_{-238A} und schwerer Anämie (McGuire *et al.*, 1999). Fraglich bleibt jedoch der kausale Zusammenhang zwischen den TNF- α -Promoterpolymorphismen und den Ergebnissen aus Ghana. Angesichts der fehlenden Assoziation mit der Produktion dieses Zytokins (de Jong *et al.*, 2002) liegt es nahe, haplotypische Kopplungen mit bestimmten HLA-Varianten zu vermuten. Warum dessen ungeachtet z.B. TNF_{-308A} in Gambia das Risiko schwerer Malaria erhöhen (McGuire *et al.*, 1994), in Ghana dagegen protektiv wirken sollte, ist unklar. Spekulativ betrachtet, könnten geografische Unterschiede in der Population von *P. falciparum* eine unterschiedliche Wechselwirkung mit HLA-Molekülen nach sich ziehen. Bislang liegen zu dieser Hypothese aber keine Erkenntnisse vor.

Erstmals konnte in Ghana eine Assoziation zwischen IL-10_{-1082G/A} und der Malaria-assoziierten Anämie auf genotypischer Ebene nachgewiesen werden. Das erniedrigte Risiko für schwere Anämie bei Vorliegen dieses mit erhöhter IL-10-Produktion einhergehenden Polymorphismus steht in Übereinstimmung mit phänotypischen Vorarbeiten (Kurtzhals *et al.*, 1998; Othoro *et al.*, 1999). Der Befund ähnlicher Prävalenzen bei gesunden, parasitärischen und schwer erkrankten Kindern steht dem nicht gegenüber. Auch in Thailand konnten keine diesbezüglichen Unterschiede beobachtet werden (Ohashi *et al.*, 2002b). Dies legt nahe, dass IL-10_{-1082G/A} zwar keinen Schutz vor der Ausbildung einer schweren Malaria vermittelt, also z.B. eine Reduktion der Parasitämie bedingt, sondern vielmehr in die pathophysiologischen Prozesse dieses Krankheitsbildes eingreift. Eine bei Vorliegen des Polymorphismus erhöhte Synthesekapazität für das anti-inflammatorischen IL-10 (Turner *et al.*, 1997) könnte dabei zu einer Drosselung inflammatorischer Prozesse führen, die mit schwerer Anämie einhergehen.

Einen ähnlichen, wenn auch umgekehrten Vorgang lassen die Befunde zu den Promoterpolymorphismen der induzierbaren Stickstoffmonoxidsynthase Typ 2 vermuten [M24]. In Ghana wurde kein protektiver Effekt der NOS2^{-954 G→C} Mutation beobachtet. Dies widerspricht Studien aus dem Gabun (Kun *et al.*, 1998b; Kun *et al.*, 2001), steht aber in Übereinstimmung mit solchen aus Gambia und Ostafrika (Hobbs *et al.*, 2002; Burgner *et al.*, 2003). Auch bei gebärenden ghanaischen Frauen hatte dieser Polymorphismus keinerlei Auswirkung

auf das Bestehen plazentarer Malaria, Parasitendichten, oder klinische Manifestation (unveröffentlicht). Bei ghanaischen Kindern wurden zudem kein protektiver Effekt des NOS2^{-1173 C→T} Allels (Hobbs *et al.*, 2002) oder für den Genotyp eines kurzen (< 11 Kopien) Pentanukleotid *repeats* (Burgner *et al.*, 1998) festgestellt. Diese fehlenden Assoziationen mit NOS2-Promoterpolymorphismen schliessen einen Zusammenhang zwischen diesen und der Malaria nicht aus. So waren, in Übereinstimmung mit Ergebnissen aus Thailand (Ohashi *et al.*, 2002a), Homozygotie für (CCTTT)_{≥13} und insbesondere das Allel (CCTTT)₁₆ mit einem erhöhten Risiko schwerer Malaria vergesellschaftet. Das mag darauf hinweisen, dass diese Pentanukleotidsequenzen eine grössere Relevanz bei der Ausbildung einer schweren Malaria besitzen als die Punktmutationen des Promoterbereichs. Allerdings ist die funktionelle Relevanz dieser (CCTTT)_n *repeats* bislang nicht klar (Burgner *et al.*, 2003). Zudem bestanden in Ghana Verteilungsungleichgewichte, die auf die Haplotypen NOS2^{-954 G→C}/(CCTTT)₈ und NOS2^{-1173 C→T}/(CCTTT)₁₃ hinweisen. Beide dieser potentiellen Haplotypen wurden vorbeschrieben (Hobbs *et al.*, 2002; Burgner *et al.*, 2003), allerdings nicht in der Eindeutigkeit, wie sie in Ghana zu beobachten waren. Ungeachtet dessen bestanden in Ghana keine Assoziationen zwischen den vermuteten Haplotypen NOS2^{-954 G→C}/(CCTTT)₈ und NOS2^{-1173 C→T}/(CCTTT)₁₃ und schwerer Malaria. [M24]. Weitere Verteilungsungleichgewichte wurden mittlerweile aus Gambia berichtet (Burgner *et al.*, 2003).

Die Pathophysiologie der verschiedenen Manifestationsformen der schweren Malaria unterscheidet sich beträchtlich. Ein hoher NO-Spiegel mag einerseits zu einer beschleunigten Parasiteneliminierung beitragen, andererseits aber eine Anämie verstärken. Es liegt nahe, einen Zusammenhang zwischen unterschiedlichen NOS2-Varianten und den Manifestationsformen der schweren Malaria zu vermuten. Tatsächlich waren NOS2^{-1173 C→T}, (CCTTT)₁₃ und ihre Kombination mit einer erhöhten Malariasterblichkeit assoziiert, hatten aber keinen Einfluss auf einzelne Symptome. In ähnlicher Weise ging der Genotyp NOS2^{-954 G→C}/(CCTTT)₈ ausschliesslich mit Schutz vor Hyperparasitämie einher. Für NOS2^{-954 G→C} und (CCTTT)₈ bestand dieser Zusammenhang nur andeutungsweise. Diese Beispiele könnten erklären, warum eine bestimmte NOS2-Variante in einer Region (Kun *et al.*, 1998b) nicht aber in anderen (Hobbs *et al.*, 2002; Burgner *et al.*, 2003) protektiv wirkt. Unter der Annahme, dass bestimmte NOS2-Promoterpolymorphismen einen selektiven Einfluss auf unterschiedliche pathophysiologische Prozesse haben könnten, ist es zudem wahrscheinlich, dass ihre Bedeutung sich mit dem lokal vorherrschenden Manifestationsmuster, z.B. schwere Anämie oder zerebrale Malaria, unterscheidet. Zunehmend wird die Fülle von Verteilungsungleichgewichten

zwischen Punktmutationen im NOS2-Promoterbereich und den (CCTTT)*n repeats* erkannt, die sich zudem in ihrer Stärke zwischen den Ethnien unterscheiden (Burgner *et al.*, 2003). Dies legt nahe, dass ethnische Unterschiede in der Mikrosatellit-Verteilung bestimmten Mutationen im NOS2-Promoter- oder auch Gen-Bereich entsprechen, die geografisch unterschiedlichem Selektionsdruck unterworfen waren. Eine Untersuchung der Zusammenhänge zwischen den NOS2-Varianten und der Manifestation der Malaria muss daher solange unzureichend bleiben, bis die lokal vorherrschenden Haplotypen identifiziert sind.

Die Bedeutung der Ko-Evolution oder des „molekularen Wettrüstens“ (Gilbert *et al.*, 1998) von *P. falciparum* und seinem Wirt für das humane Genom wird grösser als der Einfluss der Pest oder der Tuberkulose erachtet (Ruffié & Soumia, 1987). Seit Formulierung der Malaria-Hypothese durch Haldane vor über einem halben Jahrhundert haben zahlreiche Assoziationsstudien die Rolle von mittlerweile klassischen Polymorphismen wie Sichelzellanämie oder G6PD-Mangel aufgedeckt. In einem sich beschleunigendem Masse werden weitere protektive humangenetische Varianten identifiziert und die Anpassung des Parasiten an den Wirt im Sinne von Immunevasion und Selektion erkannt (Stevenson & Riley, 2004). Die kausalen Zusammenhänge dabei werden bestenfalls annähernd verstanden. Nicht zuletzt daher haben die bisherigen Erkenntnisse nur wenig zur Kontrolle, Therapie oder Prävention der Malaria beigetragen. Abschliessend erzielten wir mit den hier dargestellten Untersuchungen Fortschritte beim Verständnis von Wirts- und Parasitenfaktoren und deren Wechselspiel bei der Manifestation der Malaria tropica. Nicht unerwartet wurden dabei mehr Fragen aufgeworfen als beantwortet. Zwar dienen Untersuchungen zur Interaktion zwischen Mensch und Parasit letztlich dem Ableiten therapeutischer oder präventiver Prinzipien. Sie können jedoch auch helfen, die epidemiologischen und klinischen Konsequenzen z. T. ungerichteter Malariakontrollmassnahmen in Endemiegebieten abzuschätzen, bevor diese eingeführt werden.