

**UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF**

Abteilung für Molekulare Medizin  
Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin  
Prof. Dr. Rolf Horstmann

**Einfluss der heterozygoten  $\alpha^+$ -Thalassämie  
auf unkomplizierte Malaria und auf andere fieberhafte Erkrankungen**

**Dissertation**

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von

Barbara Geers  
aus Göttingen/Niedersachsen

Hamburg 2013

Angenommen von der  
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 20.11.2013

Veröffentlicht mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. R. Horstmann

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: PD Dr. U. Kordes

Prüfungsausschuss, dritte/r Gutachter/in: PD Dr. H. Rode

**Meinen Eltern und meinem einzigartigen Mann**

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Malaria	1
1.1.1	Epidemiologie	1
1.1.2	Erreger und Übertragung	1
1.1.3	Pathophysiologie der Malaria tropica	2
1.1.4	Klinik und Diagnosestellung der Malaria tropica	3
1.1.5	Malariahypothese und genetische Grundlagen	5
1.2	$\alpha$ -Thalassämien	6
1.2.1	Molekulare Defekte und Einteilung der $\alpha$ -Thalassämien	6
1.2.2	Klinik der $\alpha$ -Thalassämien	7
1.2.3	Verbreitung der $\alpha$ -Thalassämien	7
1.3	Malaria und $\alpha^+$ -Thalassämie	8
1.3.1	Einfluss der $\alpha^+$ -Thalassämie auf die Malariaerkrankung	8
1.3.2	Bisherige Theorien über mögliche Schutzmechanismen der $\alpha^+$ -Thalassämie vor Malaria	10
1.4	$\alpha^+$ -Thalassämie und andere Infektionskrankheiten	11
1.5	Zielsetzung und Studiendesign	11
<b>2.</b>	<b>Probanden, Material und Methoden</b>	<b>13</b>
2.1	Wahl von Ort, Zeitraum und Studienpopulation	13
2.1.1	Ort und Zeitraum der Studie	13
2.1.2	Studienpopulation	13
2.2	Material	14
2.3	Methoden	15
2.3.1	Team	15
2.3.2	Anamnese, Untersuchung und Behandlung	15
2.3.3	Dicker Tropfen und Blutausstrich	16
2.3.4	Hämatokrit und Anämie	17
2.3.5	Milzvolumen	18
2.3.6	Malariadiagnose	18
2.3.7	Nicht malariaassoziierte, fieberhafte und nicht fieberhafte Erkrankungen	19

2.3.8	Bestimmung des Genotypen	19
2.4	Statistik	19
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>21</b>
3.1	Studienpopulation	21
3.2	Vergleich zwischen Individuen mit Genotyp $-a/a$ und Genotyp $a/a$	24
3.2.1	Malaria-Parasiten	24
3.2.2	Fieber und Temperatur	28
3.2.3	Hämatokrit und Anämie	31
3.2.4	Milzvolumen	34
3.2.5	Malaria tropica	35
3.2.6	Nicht malariaassoziierte, fieberhafte und nicht fieberhafte Erkrankungen	38
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>43</b>
4.1	Studiendesign	43
4.2	Parasiten	45
4.3	Hämatokrit und Anämie	48
4.4	Milzvolumen	50
4.5	Malaria tropica	51
4.6	Nicht malariaassoziierte, fieberhafte und nicht fieberhafte Erkrankungen	53
4.7	Zusammenfassende Diskussion	54
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>56</b>
<b>6.</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>57</b>
<b>7.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>59</b>
<b>8.</b>	<b>Danksagung</b>	<b>84</b>
<b>9.</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>85</b>
<b>10.</b>	<b>Eidesstattliche Erklärung</b>	<b>86</b>

## **1. Einleitung**

### **1.1 Malaria**

#### **1.1.1 Epidemiologie**

Die Malaria ist eine der am weitesten verbreiteten Infektionskrankheiten weltweit und die wichtigste parasitäre Tropenkrankheit überhaupt. 40% der Weltbevölkerung sind der Malaria exponiert. 350 – 500 Millionen Menschen erkranken jährlich an Malaria, etwa eine Millionen Menschen sterben pro Jahr daran (Snow et al., 2005; Murray et al., 2012). Neun von zehn Todesfällen betreffen Kinder unter fünf Jahren im subsaharischen Afrika. Zusammen mit HIV und Tuberkulose- Erkrankungen zählt Malaria zu den globalen Hauptgesundheitsproblemen mit daraus folgenden negativen Auswirkungen auf die Entwicklung und Wirtschaft der betroffenen Länder.

In Ghana erkrankten im Jahr 2008 schätzungsweise 3,2 Millionen Menschen an Malaria, meist an einer Infektion mit *P. falciparum*. In den Jahren zwischen 2006-2008 wurden in Ghana jährlich 30 Millionen US-Dollar für Prävention und Malariabehandlung ausgegeben. Die für die Bevölkerung zugänglichen Gesundheitszentren wurden in etwa 44% der Fälle wegen einer Malaria konsultiert. 36 – 40% der in den Gesundheitszentren behandelten Malariaerkrankungen betreffen Kinder unter fünf Jahren, ca. 22% der Todesfälle der unter Fünfjährigen sind auf eine Malaria zurückzuführen (World Malaria Report 2010). Die Ashanti-Region, in der diese Studie im Jahr 2001 durchgeführt wurde, war in Ghana im Jahr 2003 mit 774641 registrierten Fällen die Region mit den meisten dokumentierten Malariaerkrankungen (22% aller registrierten Malariaerkrankungen in Ghana) (World Malaria Report, 2005).

#### **1.1.2 Erreger und Übertragung**

Malaria wird durch die Infektion mit Protozoen der Gattung Plasmodium verursacht. Von den mehr als einhundert bekannten Spezies werden *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* und *P. knowlesi* als humanpathogen angesehen.

Die Parasiten durchlaufen einen komplexen Entwicklungszyklus, bei dem eine sexuelle Vermehrung in den weiblichen Stechmücken der Gattung Anopheles (Sporogonie) und eine

asexuelle Vermehrung im Menschen (Schizogonie) stattfindet. Die asexuellen Stadien sind pathogen; die sexuellen Stadien, die im menschlichen Körper auftreten, sind vermutlich apathogen, werden aber auf den Vektor (Anopheles) übertragen und entwickeln sich dort zu den infektiösen Stadien der Plasmodien, den Sporozoiten (Aravind et al., 2003). Während der Blutmahlzeit werden von der Anophelesmücke die Sporozoiten in die Blutbahn injiziert. Innerhalb von 30 – 60 Minuten dringen die Sporozoiten in Leberparenchymzellen ein. In den Hepatozyten findet eine intrazelluläre, asexuelle Teilung statt, bei der ein reifer Schizont entsteht, der mehr als zehntausend Merozoiten enthält (Mota et al., 2001) (Gewebschizogonie, präerythrozytäre Phase).

Nach ein bis zwei Wochen erfolgt die Freisetzung von Merozoiten aus den Hepatozyten in die Blutbahn. Diese befallen zirkulierende Erythrozyten und durchlaufen dort weitere Entwicklungsstadien (Ring, Trophozoit, Schizont), an deren Ende die Zerstörung des Erythrozyten, Freisetzung von Merozoiten und erneute Erythrozyteninvasion stehen. *P. vivax* und *P. malariae* befallen Retikulozyten bzw. ausgereifte Erythrozyten. *P. falciparum*, Erreger der Malaria tropica, dringt jedoch in Erythrozyten unterschiedlicher Reifungsstufen ein. Beim Zerfall der Schizonten und Merozoitenfreisetzung wird Fieber ausgelöst. Ein kleiner Teil der Merozoiten entwickelt sich zu Geschlechtsformen, den Gametozyten, die durch eine Blutmahlzeit in den Magen der weiblichen Anopheles gelangen. Dort erfolgt der sexuelle Entwicklungszyklus (Sporogonie), an dessen Ende die Ausbildung der Sporozoiten in den Speicheldrüsen der Anopheles-Mücke steht und sich somit der Zyklus schließt (Garnham, 1988; Markel et al., 1992).

### **1.1.3 Pathophysiologie der Malaria tropica**

*P. ovale* und *P. vivax* sind Erreger der Malaria tertiana, *P. malariae* ist Erreger der Malaria quartana, *P. knowlesi* ist Erreger einer zoonotischen Malaria. Im Allgemeinen sind bei diesen Formen Organkomplikationen und letale Verläufe selten. Die Malaria tropica wird durch eine Infektion mit *P. falciparum* verursacht. Die Infektion kann asymptomatisch bleiben, einen unkomplizierten Verlauf nehmen, jedoch auch zu schweren Komplikationen mit letalem Krankheitsverlauf führen.

Pathogen sind die erythrozytären Formen der Plasmodien. Anämie, Ischämie, Sequestration, Immunreaktion und Inflammation sind die Hauptkomponenten der Pathogenese. Die Organe

sind im Einzelfall unterschiedlich befallen und bestimmen die klinische Ausprägung. Die Ursache für die hohe Pathogenität von *P. falciparum* wird zum einen darin vermutet, dass *P. falciparum* Erythrozyten jeden Alters befallen kann, und zum anderen eine Infektion mit *P. falciparum* zur so genannten Sequestration und Rosetting der Erythrozyten führt. Parasitierte Erythrozyten enthalten in ihrer Zellmembran Ausstülpungen, so genannte Knobs, auf denen sich Proteine wie z.B. PfEMP1 (P.-falciparum-infected erythrocyte membrane protein 1) befinden (Craig und Scherf, 2001). Diese Proteine binden an Adhäsionsmoleküle mikrovaskulärer Endothelzellen und entgehen damit dem peripheren Blutstrom, diesen Prozess bezeichnet man als Sequestration. Die Sequestration wird durch Rosetting - spontane Adhäsion nicht infizierter Erythrozyten an infizierte Erythrozyten – verstärkt. Durch die Adhäsionen kommt es zu einer Akkumulation der infizierten Erythrozyten in den postkapillaren Gefäßen mit folgender Störung der Mikrozirkulation und schließlich Hypoxie der betroffenen Organe (Miller, 1994). Auch werden weitere Pathomechanismen, die durch die Sequestration ausgelöst werden sollen, diskutiert wie z.B. eine Störung der Barrierefunktion des Endothels (Adams et al., 2002; Francischetti, 2008).

#### **1.1.4 Klinik und Diagnosestellung der Malaria tropica**

Die Prodromalerscheinungen einer Malaria sind bei allen vier Plasmodienspezies ähnlich und meist sehr unspezifisch. Sie äußern sich in grippeähnlichen Symptomen wie Abgeschlagenheit, Kopf- und Muskelschmerzen und Fieber. Bei fortbestehender Infektion ohne Therapie entwickeln sich eine Anämie und eine Splenohepatomegalie, vor allem bei Kindern können gastrointestinale und pulmonale Symptome hinzutreten (Strickland et al., 1988; White, 1996; Mockenhaupt et al., 1998).

Eine durch *P. falciparum* verursachte Malaria tropica kann zu schweren und letalen Krankheitsverläufen führen. Zu den Komplikationen einer schweren Malaria zählen zerebrale Malaria, schwere Anämie (Hämoglobin < 5 g/dl oder Hämatokrit < 15%), ein Schwächesyndrom („prostration“), Kreislaufversagen, Lungenödem, disseminierte intravasale Gerinnung, generalisierte Konvulsionen, Hämoglobinurie, Niereninsuffizienz, Hypoglykämie und Azidose.

Die schwere Anämie ist in endemischen Gebieten die häufigste Komplikation einer Malaria tropica (Greenwood, 1997; Marsh und Snow, 1999; WHO, 2000). Sie ist wesentlich an der

Mortalität und Morbidität durch Malaria beteiligt (Roberts et al., 2005). Bei wiederholten, unausgeheilten Infektionen geht die Anämie in eine chronische Form über und kann dann auch nach erfolgreicher Therapie und kompletter Parasiten-Clearance persistieren (Camacho et al., 1998) und Ursache einer bedrohlichen Anämie sein.

Es wird vermutet, dass an der Pathogenese der Malaria-Anämie mehrere Mechanismen beteiligt sind:

- Antikörper-vermittelte Prozesse und unspezifische Immunmechanismen (Dondorp et al., 1999; Griffiths et al., 2001).
- Vermehrte Phagozytose und Hämolyse infizierter und nicht-infizierter Erythrozyten (Roberts et al., 2005), dabei werden mehr nicht-infizierte Erythrozyten phagozytiert (Knüttgen, 1961), und die Hämolyse in über 90% den nicht-infizierten Erythrozyten zugeschrieben (Menendez et al., 2000; Price et al., 2001; Haldar und Mohandas, 2009).
- Bei akuter Malaria liegt eher ein erhöhter Erythrozytenverbrauch vor, bei dem auch ein Komplementverbrauch diskutiert wird (Goka et al., 2001; Stoute et al., 2003), bei chronischer Infektion ist das Knochenmark eher hypertroph und der Eiseneinbau vermindert, was zu einer Dyserythropoese und Suppression der Knochenmarksaktivität über zytokinvermittelte Hemmung führt (Dormer et al., 1983; Kurtzhals et al., 1997; Othoro et al., 1999; Wickramasinghe und Abdalla, 2000; Ong'echa et al., 2011).
- Eliminierung parasitär befallener Erythrozyten durch die Milz.

Bei der Eliminierung parasitärer Erythrozyten aus der Zirkulation spielt die Milz eine zentrale Rolle (Ho et al., 1990). Eine Splenomegalie ist neben Fieber und Anämie eines der drei Hauptmerkmale einer Malariainfektion (Mashaal, 1986). Nach überstandener Infektion ist die Splenomegalie in der Regel nach einigen Tagen rückläufig (Russell et al., 1963; Mashaal, 1986). Bei persistierenden Erregern oder intermittierenden Infektionen, wie in Malariaendemiegebieten, persistiert die Splenomegalie. Die Milzrate, also der Anteil der Kinder mit vergrößerter palpabler Milz, wird zur Einschätzung der Endemizität verwendet und kann in Hochendemiegebieten bei über 75% liegen (Garnham, 1966).

Von einer schweren Malaria sind nur ca. ein bis zwei Prozent betroffen, die meisten *P. falciparum*-Infizierten zeigen Symptome einer unkomplizierten Malaria (Greenwood et al., 1987).

### 1.1.5 Malariahypothese und genetische Grundlagen

Schon 1931 vermutete Garrod einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von allelischen Varianten des menschlichen Genoms und Infektionskrankheiten (Garrod, 1931). Er nahm an, dass Infektionskrankheiten eine Hauptursache für die Selektion von Genen in einer Population sind. Die Beobachtung, dass bestimmte Hämoglobinopathien, wie z.B. die Thalassämien, vor allem in Gebieten zu finden sind, in denen die Malaria endemisch war oder ist, veranlasste Haldane 1948 zu der Annahme, dass die Malaria für eine positive Selektion dieser Gene verantwortlich ist (Haldane, 1948). Er vermutete, dass diese Hämoglobinopathien in heterozygoter Ausprägung einen Schutz vor der Infektionskrankheit Malaria vermittelt. Er postulierte, dass die hohen Genfrequenzen der  $\beta$ -Thalassämie in bestimmten Regionen wie im Mittelmeerraum auf einen balancierten Polymorphismus zurückzuführen seien. Dies bedeutet, dass der Verlust durch frühzeitige Todesfälle von homozygoten Anlageträgern durch eine bessere Überlebensfähigkeit heterozygoter Individuen ausgeglichen wird (Haldane, 1948). Die Sichelzellanämie ist wohl das bekannteste Beispiel für die Bestätigung dieser Hypothese. Die Frequenz der Sichelzellanämie korreliert mit der Malariaprävalenz. Heterozygote Träger sind zwar nicht vor einer Infektion geschützt, erkranken jedoch seltener und weniger schwer an einer Malaria (Allison, 1964; Bayoumi, 1987; Hill et al., 1991; Le Hesran et al., 1999; Jallow et al., 2009). Auf die  $\alpha^+$ -Thalassämien lässt sich die Theorie des balancierten Polymorphismus nur bedingt anwenden, da auch homozygote Träger nur leichte hämatologische Veränderungen aufweisen, die zwar nicht mit einer Letalität einhergehen, allerdings vielleicht aber doch mit etwas reduzierter „fitness“. Man nimmt daher für die  $\alpha^+$ -Thalassämien keinen balancierten, sondern einen transienten Polymorphismus an, an dessen Ende die Fixierung des Gens in einer Population stünde; hierbei hätten auch homozygote Genträger einen Selektionsvorteil gegenüber der Normalbevölkerung. Aufgrund der im Vergleich zur  $\beta$ -Thalassämie und zur Sichelzellkrankheit nur geringer Pathologie auch bei homozygoten  $\alpha$ -Thalassämikern könnte auch ein nur leichter protektiver Schutz gegenüber Malaria dazu führen, dass die Varianten der Thalassämie in hohen Frequenzen anzutreffen sind (Hill, 1992).

## 1.2 $\alpha$ -Thalassämien

### 1.2.1 Molekulare Defekte und Einteilung der $\alpha$ -Thalassämien

Die Thalassämien zählen zu den Hämoglobinopathien. Jedes Hämoglobinmolekül besteht aus einem Tetramer von Globinpolypeptidketten. Dabei liegt ein Paar der  $\alpha$ -Kette mit einer Länge von 141 Aminosäuren und ein Paar der  $\beta$ -Kette mit 146 Aminosäuren vor. Das Hämoglobin enthält normalerweise zwei  $\alpha$ -analoge Ketten ( $\alpha$  oder  $\zeta$ ) und zwei  $\beta$ -analoge Ketten ( $\beta$ ,  $\gamma$  oder  $\delta$ ). Die Gene für die  $\alpha$ -analogen Ketten liegen auf Chromosom 16 (Deisseroth et al., 1977), die der  $\beta$ -analogen Ketten auf Chromosom 11 (Deisseroth et al., 1978).

Gesunde Individuen besitzen vier  $\alpha$ -Gene, je zwei  $\alpha$ -Globin-Gene ( $\alpha_1$  und  $\alpha_2$ ) pro Chromosom 16. Jedes dieser identischen  $\alpha$ -Gene erstreckt sich über eine Länge von ca. 850 bp und besitzt drei Exons, die für die Aminosäuresequenz der  $\alpha$ -Globine kodieren (Orkin, 1978; Buckle et al., 1988). Die Thalassämien sind hereditäre Erkrankungen der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Globin-Biosynthese. Die  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -Thalassämien entstehen infolge reduzierter oder fehlender Synthese von  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -Globin. Bei den  $\alpha$ -Thalassämien wurde die Bezeichnung  $\alpha^0$  (-/-) für die Deletion beider  $\alpha$ -Loci eines Chromosoms verwendet, eine einzelne Deletion wird mit  $\alpha^+$  (-/ $\alpha$ ) benannt (Weatherall und Clegg, 1981). Bei der  $\alpha^+$ -Thalassämie kommt es durch meist ungleiches Crossing over zur Deletion eines  $\alpha$ -Globingens. Üblicherweise unterscheidet man vier Deletionen. Zum einem kann eine Deletion eines 3.7 kb langen DNA-Abschnittes ( $-\alpha^{3.7}$ ) mit Bildung eines Hybridgens aus den Loci  $\alpha_1$  und  $\alpha_2$  erfolgen. Je nach Position des Crossing Overs unterscheidet man in der Nomenklatur  $-\alpha^{3.7I}$ ,  $-\alpha^{3.7II}$  und  $-\alpha^{3.7III}$  (Weatherall und Clegg, 2008).

Eine andere, 4.2 kb umfassende Deletion ( $-\alpha^{4.2}$ ), hinterlässt ein  $\alpha_1$ -Gen auf dem betroffenen Chromosom (Embury et al., 1980, Higgs et al., 1984). Durch die Synthesestörung der  $\alpha$ -Ketten kommt es sowohl in utero (*HbF*), als auch postnatal (*HbA*) zu einer pathologischen Hämoglobinproduktion. In Folge der verminderten  $\alpha$ -Globin-Produktion werden bei Neugeborenen vermehrt  $\gamma$ - und bei Erwachsenen vermehrt  $\beta$ -Ketten gebildet. Bei Deletion aller vier Loci des  $\alpha$ -Globin-Gens (homozygote  $\alpha^0$ -Thalassämie --/--) bildet sich Hämoglobin Barts ( $\gamma_4$ ), bei Deletion von drei der vier  $\alpha$ -Loci (heterozygot für  $\alpha^0$ - und  $\alpha^+$ -Thalassämie --/ $\alpha$ ) kommt es zur HbH-Krankheit. Die Deletion von zwei der vier  $\alpha$ -Loci führt zur  $\alpha$ -Thalassämie-1 und kann in der trans- (homozygote  $\alpha^+$ -Thalassämie -/ $\alpha$ -) oder der cis-

(heterozygote  $\alpha^0$ -Thalassämie  $--/\alpha\alpha$ ) Form vorliegen. Die Deletion einer der vier  $\alpha$ -Loci führt zur  $\alpha$ -Thalassämie-2 (heterozygote  $\alpha^+$ -Thalassämie  $-\alpha/\alpha\alpha$ ).

### 1.2.2 Klinik der $\alpha$ -Thalassämien

Die klinische Manifestation der  $\alpha$ -Thalassämien ist abhängig von der Zahl vorhandener  $\alpha$ -Globin-Gene. Die schwerste Form ist die homozygote Form der  $\alpha^0$ -Thalassämie ( $--/--$ ). Es kommt vorwiegend zur Bildung von Hb Barts ( $\gamma_4$ ) und in Folge zu Tod in utero oder in den ersten Lebensstunden. Bei der HbH-Krankheit ( $--/\alpha$ ) tritt infolge des instabilen HbH eine hämolytische Anämie mit einer ausgeprägten Splenomegalie auf (Weatherall und Clegg, 2008).

Die  $\alpha$ -Thalassämia minor tritt in schwerer und milder Ausprägung auf. Die schwere Form findet sich bei der heterozygoten  $\alpha^0$ -Thalassämie ( $--/\alpha\alpha$ ) oder bei der homozygoten  $\alpha^+$ -Thalassämie ( $-\alpha/\alpha$ ). Die Klinik ist durch eine leichte mikrozytäre, hypochrome Anämie gekennzeichnet (Weatherall und Clegg, 1981; Higgs et al., 1989). Die milde Form der  $\alpha$ -Thalassämia minor findet man bei einer heterozygoten  $\alpha^+$ -Thalassämie ( $-\alpha/\alpha\alpha$ ). Drei  $\alpha$ -Globin-Gene reichen für die essentiellen normalen Funktionen aus. Sie führen nicht zur Erkrankung und sind, wenn überhaupt, nur durch leichte Veränderungen des Blutbildes gekennzeichnet (Higgs, 1993; Williams et al., 1996a). Sie werden auch als stumme Träger der Anämie bezeichnet. Die Thalassämia minor ist nicht therapiebedürftig.

### 1.2.3 Verbreitung der $\alpha$ -Thalassämien

Die Epidemiologie der  $\alpha$ -Thalassämie lässt sich am besten mit der Genfrequenz  $f$  beschreiben. Hierbei handelt es sich um eine Maßzahl, die sich aus der Zahl der Mutationen oder Deletionen eines Gens, bezogen auf die Zahl der untersuchten Chromosomen, ergibt. Im Falle der  $\alpha^0$ -Thalassämie ( $--$ ) entspricht die Prävalenz der Genträger der Genfrequenz  $f$ , da homozygote Genträger nicht lebensfähig sind. Bei der  $\alpha^+$ -Thalassämie muss der Anteil homozygoter und heterozygoter Genträger bekannt sein, um die Genfrequenz zu berechnen. Die klinische Ausprägung bei heterozygoten Trägern ist in der Regel so mild und die hämatologischen Parameter oft im Normbereich, so dass es erst seit Einführung der DNA-Analyse möglich ist, den Trägerstatus der meisten Formen der  $\alpha$ -Thalassämie eindeutig zu

verifizieren (Flint et al., 1993). Man erkannte, dass die  $\alpha$ -Thalassämie die häufigste monogene Erbkrankheit der Welt ist (Livingstone, 1985).

Hohe Genfrequenzen der  $\alpha$ -Thalassämie treten vor allem in den Regionen auf, in denen die Malaria endemisch ist oder war. Die  $\alpha^+$ -Thalassämie ist in großen Teilen Afrikas, der Mittelmeerregion, im Mittleren Osten, in Südostasien, auf den pazifischen Inseln und an den Küstenregionen von Papua Neuguinea (Weatherall, 1987) verbreitet. In manchen Populationen sind bis zu 80% der Bevölkerung betroffen (Weatherall, 1987), für die  $\alpha^+$ -Thalassämie trifft dies z.B. auf Regionen in Nepal, in manchen indischen Provinzen und in Papua Neuguinea zu (Flint et al., 1986a; Fodde et al., 1988; Modiano et al., 1991). Die  $-\alpha^{4.2}$  Variante der Deletion findet man in Südostasien und Ozeanien (Flint et al., 1986a; Hill 1992; Flint et al., 1993). In Afrika tritt diese Variante nur selten auf, hier liegt fast ausschließlich der  $-\alpha^{3.7}$  Typ vor (Vandenplas et al., 1987; Muklawala et al., 1989). Im nördlichen Afrika wird die  $\alpha^+$ -Thalassämie mit Frequenzen von 0,05-0,07, in den Gebieten südlich der Sahara mit Frequenzen von 0,1-0,39 beobachtet (Muklawala et al., 1989; Adekile et al., 1993). Die verschiedenen Typen der  $\alpha^+$ -Thalassämie treten unabhängig voneinander in unterschiedlichen Populationen auf und sind Ausdruck einer Selektion durch Malaria (Weatherall, 1987; Hill, 1992).

### **1.3 Malaria und $\alpha^+$ -Thalassämie**

#### **1.3.1 Einfluss der $\alpha^+$ -Thalassämie auf die Malariaerkrankung**

Die ersten epidemiologischen Studien, die einen Zusammenhang zwischen der Malariaerkrankung und der  $\alpha^+$ -Thalassämie darlegten, wurden in den Malariagebieten von Papua Neuguinea und den melanesischen Inseln durchgeführt. In diesen Regionen tritt die  $\alpha^+$ -Thalassämie in hohen Frequenzen auf. HbS und HbE liegen dort nicht vor (Livingstone, 1985),  $\beta$ - und  $\alpha^0$ -Thalassämien treten dort nur vereinzelt auf (Bowden et al. 1985). Aufgrund dieser Umstände bietet sich diese Region besonders zur Klärung des Zusammenhanges zwischen Malaria und der  $\alpha^+$ -Thalassämie an. In mehreren Studien konnte eine Verbindung zwischen der Prävalenz der Malaria und der Frequenz der  $\alpha^+$ -Thalassämie gezeigt werden. In Papua Neuguinea und Vanuatu korrelierte der Rückgang der Malariaprävalenz in den Gebirgsregionen mit einer niedrigeren Genfrequenz der  $\alpha^+$ -Thalassämie (Flint et al., 1986a).

Eine Korrelation zwischen der Inzidenz von *P. falciparum* und der Frequenz von  $\alpha^+$ -Thalassämie konnte in einer neueren Studie in Vanuatu bestätigt werden (Ubalee et al., 2005). Auch Studien in Nepal unterstützen die Malariahypothese für die  $\alpha^+$ -Thalassämie. In der Bevölkerung, die bereits seit Generationen in einer für Malaria holoendemischen Region lebte, waren bis zu 80% von einer  $\alpha^+$ -Thalassämie betroffen, wohingegen bei Einwanderern in dieses Gebiet, die der Malaria wenig oder gar nicht ausgesetzt waren, eine  $\alpha^+$ -Thalassämie in weniger als 10% beobachtet wurde (Modiano et al., 1991). Eine aktuellere Studie zeigte in malariaendemischen Gebieten in Nepal eine Prävalenz der  $\alpha^+$ -Thalassämie von 79,4%, bei Bevölkerungsgruppen in malariafreien Gebieten ist die Prävalenz der  $\alpha^+$ -Thalassämie dagegen mit 8,8% bis 20,5% deutlich niedriger (Suzuki et al., 2007). Auch in Afrika (Tansania) konnte eine klare Korrelation zwischen der Intensität der *P. falciparum* Transmission und dem Auftreten der  $\alpha^+$ -Thalassämie belegt werden (Enevold et al., 2007).

Es gibt viele Hinweise darauf, dass ein protektiver Effekt der  $\alpha^+$ -Thalassämie gegenüber der Malariaerkrankung die hohe Frequenz in Malariagebieten erklärt (Williams et al., 1996a; Allen et al., 1997; Flint et al., 1998). In einer Fall-Kontroll-Studie an der Nordküste von Papua Neuguinea konnte gezeigt werden, dass das Risiko, an einer schweren Malaria zu erkranken, bei Kindern mit einer  $\alpha^+$ -Thalassämie signifikant geringer war als bei Kindern mit normalem  $\alpha$ -Globin-Genotypen (Allen et al., 1997). In Afrika konnte in mehreren Studien nachgewiesen werden, dass die  $\alpha^+$ -Thalassämie vor einem schweren Verlauf der Malaria schützt und Kinder mit einer  $\alpha^+$ -Thalassämie seltener auf Grund einer Malaria in einem Krankenhaus behandelt werden mussten. Hier scheint insbesondere der Schutz vor einer schweren malariaassoziierten Anämie eine Rolle zu spielen (Yates, 1995; Mockenhaupt et al., 2004b; Wambua et al., 2006; May et al., 2007). Eine mikrozytäre Anämie, wie sie bei der  $\alpha^+$ -Thalassämie vorzufinden ist, scheint vor einem Hämoglobinabfall unter einer Infektion mit *P. falciparum* zu schützen (Mockenhaupt et al., 1999c; Fowkes et al., 2008b). Diese Ergebnisse decken sich mit früheren Beobachtungen an der Nordküste von Neuguinea. In der dort durchgeführten Studie wurde eine malariaassoziierte Anämie am häufigsten bei Kindern mit normalen  $\alpha$ -Globin-Genotypen und am seltensten bei sehr jungen homozygoten Kindern diagnostiziert (Oppenheimer et al., 1987). In Kenia wurde darüber hinaus bei Kindern mit einer  $\alpha^+$ -Thalassämie eine geringere Malaria-Mortalität als bei Kindern mit einem normalen  $\alpha$ -Globin-Genotypen festgestellt (Williams et al., 2005a).

### 1.3.2 Bisherige Theorien über mögliche Schutzmechanismen der $\alpha^+$ -Thalassämie vor Malaria

Schon Haldane vermutete 1948, dass die bei einer Thalassämie auftretenden mikrozytären Erythrozyten resistenter gegen Malariaerreger sein könnten als die Erythrozyten der gesunden Population (Haldane, 1948). Aktuell werden bei der  $\alpha^+$ -Thalassämie verschiedene Mechanismen diskutiert, die einen Schutz vor einer Malariaerkrankung vermitteln könnten:

#### - Oxidativer Stress:

Die Membran von Thalassämieerythrozyten ist gegenüber Oxidantien besonders empfindlich. Durch experimentell erzeugten oxidativen Stress konnte ein vermindertes Parasitenwachstum beobachtet werden, diese Beobachtung war bei thalassämischen Erythrozyten ausgeprägter als bei normalen Erythrozyten (Senok et al., 1997b).

#### - Frühzeitige Entwicklung von Immunmechanismen:

In einer Studie auf der Insel Espiritu Santos in Vanuatu wurde bei bis zu zweijährigen Kindern mit einer homozygoten  $\alpha^+$ -Thalassämie eine signifikant erhöhte Inzidenz für die unkomplizierte Malaria durch *P. vivax* festgestellt (Williams et al., 1996b). Diese gehäufte Infektion mit dem weniger gefährlichen *P. vivax* könnte als natürliche „Impfung“ gegen spätere Infektionen mit *P. falciparum* fungieren (Williams et al., 1996b). Übereinstimmend wurde in einer späteren, vergleichenden Studie zwischen Espiritu Santo und Kilifi in Kenia, Gegenden mit vergleichbarer Malaria Transmission, eine schwere Malaria signifikant seltener in Espiritu Santo als in dem *P. vivax* freien Kilifi beobachtet (Maitland, 2000).

- Resistenz gegen erythrozytäre Invasion und intraerythrozytäres Parasitenwachstum (Yuthavong und Wilairat, 1993).

- Erhöhte Immunabwehr durch vermehrte Expression von Oberflächen-Antigenen an infizierten Erythrozyten und folgender erhöhter Elimination derselben (Yuthavong et al., 1990; Luzzi et al., 1991).

#### - Verminderte Rosettenbildung und reduzierte Sequestration

Schutz vor schwerer Malaria könnte auch auf einer verminderten Rosettenbildung (Carlson et al., 1994; Udomsangpetch et al., 1993) und auf einer reduzierten Sequestration beruhen (Butthep et al., 2006).

#### - Erhöhtes Haptoglobin

das für Plasmodien toxische Haptoglobin kommt bei homozygoten  $\alpha^+$ -Thalassämikern in

höherer Konzentration vor als bei Heterozygoten oder Wildtypen (Imrie et al., 2006).

- Multiplizität der Infektion

Unter der Multiplizität der Infektion (MOI = multiplicity of infection) versteht man die Co-Infektion mit verschiedenen *P. falciparum*-Stämmen als Ausdruck des Immunstatus. Denn mit steigender MOI sinkt der Immunstatus. Vafa et al. beobachteten in einem mesoendemischen Gebiet in Senegal einen saisonalen Anstieg der MOI bei Kindern mit normalem  $\alpha$ -Globinstatus. Im Sinne eines möglichen Schutzmechanismus konnte dieser saisonale Anstieg bei  $\alpha^+$ -thalassämischen Kindern nicht beobachtet werden (Vafa et al., 2008).

#### **1.4 $\alpha^+$ -Thalassämie und andere Infektionskrankheiten**

Allen et al. konnten nachweisen, dass Kinder mit  $\alpha^+$ -Thalassämie nicht nur seltener an einer schweren Malaria erkrankten, sondern auch seltener an anderen schweren Erkrankungen, die zu einem Krankenhausaufenthalt führten (Allen et al., 1997). In einer Studie wurden seltener Infekte der unteren Atemwege und seltener eine nicht mit Malaria assoziierte schwere Anämie bei Kindern mit  $\alpha^+$ -Thalassämie beobachtet als bei Kindern der genetisch normvariablen Vergleichsgruppe (Wambua et al., 2006).

#### **1.5 Zielsetzung und Studiendesign**

Ein protektiver Einfluss der  $\alpha^+$ -Thalassämie auf den Verlauf der Malaria wurde in verschiedenen Studien nachgewiesen. Hierbei wurde insbesondere dem Genotyp  $-a/-a$  ein schützender Effekt zugesprochen. Bezüglich des Einflusses des Genotyp  $-a/\alpha\alpha$  existieren unterschiedliche Ergebnisse. In bisherigen Studien zeigte sich vor allem ein Schutz vor einer schweren Malaria, hier besonders vor einer schweren malariaassoziierten Anämie. Über den Einfluss des Genotyp  $-a/\alpha\alpha$  auf die unkomplizierte Malaria und die asymptomatische Parasitämie gibt es wenige Aussagen. Die unkomplizierte Malaria macht jedoch den Großteil aller Malaria-Erkrankungen aus und verursacht somit hohe volkswirtschaftliche Kosten. In der vorliegenden Studie soll der Einfluss des Genotyp  $-a/\alpha\alpha$  auf die unkomplizierte Malaria und deren Verlauf untersucht werden. Hierzu wurden die Prävalenzen der Plasmodien-Infektionen, der unkomplizierten Malaria-Episoden und der Anämie zwischen Genotyp  $-a/\alpha\alpha$  und Genotyp  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$  verglichen.

Des Weiteren wurden die Parasitendichten als Ausdruck der akuten Infektion und die Milzgrößen als Spiegelbild stattgehabter Infektionen sowie die Hämatokrit-Werte den Genotypen gegenübergestellt. Da es Hinweise dafür gibt, dass die  $\alpha^+$ -Thalassämie auch vor schwereren Verläufen anderer Erkrankungen schützt, wurde die Prävalenz sonstiger Erkrankungen zwischen den Genotypen verglichen.

Die vorgelegte Studie erfolgte im Rahmen einer Pilotstudie in Form einer familiären, prospektiven Kohortenstudie. Das Besondere an dieser Studie ist, dass Geschwisterkinder, die sich in Bezug auf den Genotyp der  $\alpha^+$ -Thalassämie unterscheiden, verglichen wurden.

Störende Einflussgrößen, wie genetische Heterogenität in Populationen und Unterschiede in Exposition für Malariainfektion konnten so minimiert werden. Bis zu diesem Zeitpunkt wurde keine Studie dieser Art durchgeführt.

Die Aufdeckung von Zusammenhängen zwischen der Infektion und der Disposition des Wirtes kann für die Pathophysiologie der Malaria und die Entwicklung von Malariamedikamenten und -impfstoffen von Bedeutung sein.

## **2. Probanden, Material und Methoden**

### **2.1 Wahl von Ort, Zeitraum und Studienpopulation**

#### **2.1.1 Ort und Zeitraum der Studie**

Die Studie wurde von Mitte August bis Mitte Dezember 2001 in zehn Dörfern der Aschanti-Region in Ghana durchgeführt. Die Dörfer liegen in dem Distrikt Asante Akim North. Die vorwiegende Vegetationsform besteht aus Regenwald mit entsprechend vorherrschendem feucht-tropischen Klima. Die Temperaturen schwanken am Tage zwischen 28 °C und 35 °C, nachts erfolgt eine Abkühlung auf etwa 25 °C. Es gibt eine Hauptregenzeit von Mai bis August und eine Nebenregenzeit von Oktober bis November. Die Region ist hyperendemisch für Malaria, die Prävalenz liegt bei ca. 50% und ist bei den zwei- bis neunjährigen Kindern am höchsten. Die Übertragung von *P. falciparum*, *P. malariae* und *P. ovale*, vor allem über *Anopheles gambiae*, findet das ganze Jahr hindurch statt. *P. falciparum* liegt als vorherrschende Plasmodienspezies in > 90% der Malariainfektionen vor (Browne et al., 2000). *P. vivax* ist in Westafrika nicht vertreten. Zur medizinischen Versorgung stehen der Bevölkerung in den Städten Krankenhäuser und in den Dörfern Gesundheitszentren zur Verfügung.

#### **2.1.2 Studienpopulation**

Insgesamt nahmen 112 Kinder aus 33 Familien an der Studie teil. Das Alter der Kinder lag zwischen sechs Monaten und zwölf Jahren. Die Kinder lebten entweder direkt in den teilnehmenden Dörfern oder in einem Umkreis, von dem aus sie alleine oder in Begleitung Erwachsener die teilnehmenden Dörfer zu den wöchentlichen Untersuchungen erreichen konnten. Die teilnehmenden Kinder gehörten alle der ethnischen Gruppe der Akan an (Timmann et al., 2007). Ziel dieser Studie war, den Einfluss des heterozygoten Genotyps  $-a/\alpha$  der  $\alpha$ -Thalassämie Variante  $-\alpha^{3.7}$  (Weatherall und Clegg, 2008) auf die leichte Malariaerkrankung zu untersuchen. Durch eine Voruntersuchung wurden solche Familien ausgewählt, bei denen ein Elternteil den Genotyp  $-a/\alpha$  und der andere Elternteil den Genotyp  $\alpha/\alpha$  trug. Des Weiteren waren beide Elternteile frei von genetischen Varianten, von denen bekannt ist, dass sie einen Einfluss auf den Verlauf einer Plasmodieninfektion haben können (HbS, HbC, Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel (A-)) (Fleming et

al., 1979; Ruwende et al., 1995; Modiano et al., 2001; Rihet et al., 2004, Louichareon et al., 2009). Der Genotyp der Kinder war zum Zeitpunkt der Untersuchungen nicht bekannt und wurde später im Bernhard-Nocht-Institut in Hamburg ermittelt. Es nahmen mindestens zwei Geschwisterkinder einer Familie an der Studie teil. Durch dieses Studiendesign ergibt sich, daß statistisch gesehen die Geschwisterkinder zu 50% Genotyp  $-a/aa$  und zu 50% Genotyp  $aa/aa$  waren. Durch dieses 1:1-matching (paired matching) von genetisch ähnlichen Geschwisterkindern, die im selben Umfeld lebten, konnte der Einfluss von Genotyp  $-a/aa$  auf die Malariaerkrankung in besonderer Weise differenziert herausgearbeitet werden. Die Eltern stimmten der Teilnahme an der Studie schriftlich zu. Die ethische Zustimmung erfolgte über die School of Medical Sciences, Kwame Nkrumah University of Science and Technology, Kumasi, Ghana.

## 2.2 Material

Zur Untersuchung der Kinder, zur Ermittlung der Malariadiagnose, der Parasitendichte und des Hämatokrit-Wertes wurden folgende technischen Geräte und Materialien verwendet:

- Waage, digital (Soehnle®)
- Ohr-Thermometer, digital (Braun®, Thermoscan®)
- Mikrozentrifuge, 12 Volt (LW Scientific®, CLINSPIN Hct®), Drehzahl: 11.000 Umdrehungen/Minute, 16060 g
- Ultraschallgerät, portabel (Shimadzu® Echo View SDU 350®)
- Qualitäts-Mikroskope verschiedener Hersteller und Immersions-Öl
- Haut-Desinfektions-Spray
- Handschuhe (nicht steril)
- Giemsa-Färbelösung
- Methanol, Harnstoff
- May-Grünwald-Lösung
- Gilson 100µl Pipetten
- Objektträger
- Plastik-beschichtete Hämatokrit-Kapillarröhrchen, nicht anti-koaguliert (Becton Dickinson #361025)
- Mikrolanzetten

## **2.3 Methoden**

### **2.3.1 Team**

Die Dörfer wurden einmal pro Woche an einem bestimmten Wochentag (z.B. immer dienstags) mittels Geländewagen angesteuert. Die teilnehmenden Kinder wurden vor Ort untersucht und selbst, oder stellvertretend die Eltern, anamnestiziert. Dies erfolgte durch ein Team bestehend aus einem Kinderarzt, zwei bis drei erfahrenen „field-workern“, einem Fahrer und mir als Doktorandin. Wenn ein Kind zu einem Termin nicht erscheinen konnte, wurde es, wenn organisatorisch möglich, noch in derselben Woche in einem der anderen Dörfer vorstellig. Insgesamt wurden die Dörfer 15-mal besucht.

### **2.3.2 Anamnese, Untersuchung und Behandlung**

Bei der wöchentlichen Anamnese wurden Fieberepisoden, Medikamenteneinnahme, zwischenzeitliche Krankheitsepisoden und das Aufsuchen eines Gesundheitszentrums oder eines Krankenhauses erfragt. Bei jedem Kind erfolgte pro Konsultation eine aurikuläre Temperaturmessung. Einmal pro Monat wurde sonographisch die Milzgröße bestimmt, die Körpergröße und das Gewicht ermittelt. Bei angegebenen Beschwerden erfolgte eine klinische Untersuchung und Behandlung. Bei der Untersuchung wurden unter anderem eine Puls- und Temperaturmessung, eine Hautinspektion, eine Beurteilung der Konjunktiven, eine Auskultation von Herz und Lunge sowie eine Abdomenuntersuchung mit Schwerpunkt Milzpalpation durchgeführt. Neben Malaria wurden die Kinder vor allem auf Grund von Atemwegsinfekten, Durchfallerkrankungen, Otitiden und Hautabszessen behandelt. Bestand klinisch der Verdacht einer Malaria, wurde das Kind über drei Tage mit Chloroquin (10 mg pro kg Körpergewicht) behandelt. Bei anderen Erkrankungen wurden hauptsächlich Antibiotika (Penicillin, Amoxycillin, Metronidazol, Cotrimoxazol), Analgetika und Antipyretika (Paracetamol, Aspirin), Mukolytika, orale Elektrolytlösungen und Vitamin-B-Komplexe eingesetzt. Um eine Anämie in Folge von Eisenmangel oder einer Hakenwurminfektion zu verhindern, wurden die Kinder über einen Zeitraum von sechs Wochen vor Beginn der Studie oral mit Eisen substituiert und mit Albendazol behandelt.

### 2.3.3 Dicker Tropfen und Blutausstrich

Jede Woche wurde aus der Fingerbeere Kapillarblut zur Anfertigung eines dicken Tropfens und zweier Blutausstriche gewonnen. Die dicken Tropfen dienten der Bestimmung der Parasitendichte, die Ausstriche der Speziesdifferenzierung der Plasmodien. Bei Nachweis einer Infektion mit *P. falciparum* erfolgte eine Auszählung der Parasitendichte. Sofort nach Blutentnahme erfolgte die Anfertigung eines dicken Tropfens und von zwei Ausstrichen auf einem Objektträger. Mit Hilfe eines zweiten Objektträgers wurde für die Herstellung eines Ausstriches das gewonnene Blut der Länge nach ausgestrichen, um möglichst eine einschichtige Verteilung der Erythrozyten zu erreichen. Die Präparate wurden zunächst vor Ort luftgetrocknet und an demselben Tag im Labor weiter verarbeitet. Die Blutausstriche wurden mit Methanol fixiert und anschließend erst für fünf Minuten mit May-Grünwald- und danach mit Giemsa-Lösung gefärbt. Die dicken Tropfen wurden nicht fixiert. Dadurch destruierten die Erythrozyten bei der Färbung, so dass die Plasmodien bei der Auszählung nicht intrazellulär, sondern frei vorlagen. Die dicken Tropfen wurden mit 3%-iger Giemsa-Lösung über 40 Minuten gefärbt. Jeder dicke Tropfen wurde von zwei verschiedenen erfahrenen technischen Assistenten befundet. Unterschied sich das Ergebnis der Auszählung um mehr als den Faktor drei, so wurde ein drittes Mal von einem dritten Assistenten gezählt. Als definitives Ergebnis wurde jeweils der Median der zwei bzw. drei Werte genommen. Die Präparate wurden bei 1000-facher Vergrößerung mit dem Ölimmersionsobjektiv mikroskopiert. Die Anzahl der Parasiten wurde pro 200 Leukozyten ausgezählt. In einem Mikroliter Blut sind durchschnittlich 8000 Leukozyten enthalten. Die Anzahl der Parasiten pro Mikroliter Blut lässt sich also nach folgender Formel berechnen (Burchard et al., 2001):

$$\text{Parasiten}/\mu\text{l Blut} = \text{gezählte Parasiten} \times 8000 / 200$$

Da man davon ausgeht, dass in Endemiegebieten keine absolute Parasitenfreiheit besteht und Kinder auch geringere Parasitämien als ein Parasit pro dickem Tropfen haben können wurde bei mikroskopisch nicht nachweisbarer Parasitämie die halbe Nachweisgrenze (20 Parasiten/ $\mu\text{l}$  Blut) angenommen. Verglichen wurden die 75% Quantilen der ermittelten Parasitendichten pro Kind über 15 Wochen. Die 75% Quantile der Parasitendichte wurde anstelle des Median als Messgröße ausgewählt, um den mangelnden Informationsgehalt der Parasitendichte am Median zu berücksichtigen (die Nachweisgrenze wurde bei vielen

Individuen als Medianwert gefunden).

### 2.3.4 Hämatokrit und Anämie

Alle zwei Woche wurde der Hämatokrit-Wert bestimmt. Hierfür erfolgte nach Hautdesinfektion mit einer Mikrolanzette die Punktion einer Fingerbeere. Um falsch niedrige Hämatokrit-Werte durch Mischung mit Gewebsflüssigkeit und falsch hohe Werte durch Gerinnelbildung zu vermeiden, wurde der erste Tropfen des so gewonnenen kapillären Blutes verworfen. Danach wurde ein Kapillarröhrchen mit kapillärem Blut gefüllt und mit einem Dichtmittel an einem Ende versiegelt. Direkt im Anschluss wurden je vier versiegelte Kapillarröhrchen sechs Minuten lang bei 16060 g zentrifugiert. Die Ablesung des Hämatokrit-Wertes, als zellulärer Anteil des Blutes in Prozent, erfolgte nach Zentrifugation mittels normographierter Ablesekarten. Ließ sich der Hämatokrit-Werte z.B. auf Grund von Blutgerinnung nicht bestimmen oder versäumte ein Kind den Besuch, so wurde der Hämatokrit in der nächsten und dann wieder in der übernächsten Woche bestimmt, damit die ursprüngliche Zeitfolge der Hämatokritbestimmungen wieder eingehalten wurde. Eine Anämie wurde in der Altersgruppe der 0,5 – 6-jährigen bei einem Hämatokrit < 33%, bei den 6 – 12-jährigen bei einem Hämatokrit < 36% definiert (Roberts et al., 2005).

Bezüglich des Hämatokrit-Wertes erfolgte der Vergleich der über den Studienzeitraum pro Kind ermittelten medianen Werte, der 25% Quantilen, sowie der Vergleich der 75% Quantilen des maximalen Hämatokrit-Verlustes pro Tag und der 75% Quantilen des maximalen Hämatokrit-Anstieges pro Tag. Die 75%- bzw. 25%-Quantilen wurden anstatt der maximalen bzw. minimalen Werte gewählt, um mögliche Verzerrungen durch Ausreißer-Werte zu minimieren. Zur Berechnung der Hämatokrit-Differenzen/Tag wurden für jedes Kind die Hämatokrit-Werte 1-7 gemäß der zeitlichen Reihenfolge mit dem dazugehörigen Zeitpunkt korreliert. Durch Subtraktion des Hämatokrit-Wertes x bzw. der korrespondierenden Zeiteinheiten in Sekunden zum Zeitpunkt x von den entsprechenden Folgewerten x + 1 (z.B. Hämatokrit 2 – Hämatokrit 1; Hämatokrit 3 – Hämatokrit 2 usw.) erhielt man  $\Delta$  HKT und  $\Delta$  Zeit (in Sekunden). Durch Umrechnung der Sekunden in Tage konnte durch den Quotienten  $\Delta$  HKT /  $\Delta$  Zeit (d) die Hämatokrit-Differenz pro Tag bestimmt werden. Die Werte, die im negativen Bereich liegen, sind im Sinne eines Hämatokrit-Verlustes; die Werte, die im positiven Bereich liegen, sind im Sinne eines Hämatokrit-Anstieges zu verstehen.

### 3.2.5 Milzvolumen

Alle vier Wochen wurde mit einem tragbaren Ultraschallgerät mit konvexen 3,75 MHz Schallkopf die Milz vermessen. Die Sonographie wurde am liegenden Kind durchgeführt, der durchführende Kinderarzt saß rechts neben dem Kind. Folgende Messungen wurden durchgeführt:

- Milzlänge (L) = größte Distanz zwischen Milzkuppel und Milzspitze
- Tiefe 1 ( $D_L$ ) = in derselben Darstellungsebene wie die Milzlänge, dazu der rechtwinklig gelegene größte Diameter
- Breite (B) = in der Transversalebene durch den Hilus verlaufender Diameter rechtwinklig zur Länge
- Tiefe 2 ( $D_B$ ) = rechtwinklig zur Breite verlaufender größter Diameter

Das Milzvolumen lässt sich aus den oben genannten Parametern mit folgender Formel bestimmen (Dittrich et al., 1983):

$$\text{Milzvolumen (ml)} = L \times B \times [(D_L + D_B) / 2] \times 0,523.$$

Das mit dieser Formel berechnete Milzvolumen entspricht dem tatsächlichen, absoluten Milzvolumen. Das Milz-Sollvolumen ist abhängig von der Körpergröße (Markisz et al., 1987; Capaccioli et al., 2000;) und lässt sich nach folgender Formel berechnen (Dittrich et al., 1983; Frank et al., 1984; Friis et al., 1996):

$$y = 0,51 \cdot \text{Körpergröße [cm]} - 13,38.$$

Um die Vergrößerung der Milz aufgrund der Parasiten zu ermitteln wurden, die errechneten tatsächlichen Milzvolumina zu den Milz-Sollvolumina in Relation gesetzt. Zum Vergleich der relativen Milzvergrößerung zwischen den Genotypgruppen wurde der Median der ermittelten Messergebnisse herangezogen.

### 2.3.6 Malariadiagnose

Bei der Auswertung wurde folgende Definition einer leichten Malariaepisode verwendet:  
Nachweis von Plasmodien im Blut und eine aurikulär gemessene Körpertemperatur

> 37,7 °C oder anamnestische Angabe von Fieber in der vergangenen Woche (WHO, 2000; Powell et al., 2001). Als asymptomatische Parasitämie wurde der Nachweis von Parasiten im Blut ohne Fiebernachweis definiert.

### **2.3.7 Nicht malariaassoziiert, fieberhafte und nicht fieberhafte Erkrankungen**

Bei der Auswertung wurde folgende Definition einer nicht malariaassoziierten, fieberhaften Erkrankung verwendet:

Aurikulär gemessene Körpertemperatur > 37,7 °C oder anamnestische Angabe von Fieber in der vergangenen Woche ohne Nachweis von Plasmodien im Blut.

Eine nicht fieberassoziierte Erkrankung wurde definiert bei therapiebedürftiger Symptomatik in Abwesenheit von Fieber und Plasmodien.

### **2.3.8 Bestimmung des Genotypen**

Die Genotypen für die genetischen Varianten HBS, HBC, Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase- Mangel (A-) und  $\alpha^+$ -Thalassämie Variante  $\alpha^{3.7}$  der Eltern der Studienkinder wurden in Vorbereitung einer genomweiten Kopplungsanalyse für leichte Malaria durch Mitarbeiter des Bernhard-Nocht-Institutes in Hamburg bestimmt (Timmann et al., 2005.; Timmann et al., 2007). Die Thalassämie-Genotypen der Kinder wurden im Anschluß an den klinischen Teil der Studie bestimmt (Timmann et al., 2007).

## **2.4 Statistik**

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine explorative Datenerhebung. Die Studie wurde als prospektive, familiäre, geschlossene Kohortenstudie mit interner Vergleichsgruppe durchgeführt. Dies bedeutet, dass Geschwisterkinder über einen festgelegten Zeitraum (15 Wochen) hinsichtlich interessierender Ereignisse (z.B. Auftreten von Malaria) beobachtet wurden. Interne Vergleichsgruppe bedeutet hierbei, dass die gesamte Studienpopulation in unterschiedlich exponierte Gruppen (Genotyp  $-a/aa$  und Genotyp  $aa/aa$ ) unterteilt wurde; geschlossen bedeutet, dass nach Beginn der Studie keine neuen Personen der Studienpopulation mehr beitreten konnten. Die Daten der Felduntersuchungen und die Ergebnisse der Parasitenbefunde wurden von je zwei Personen in die Datenbank (4D von SA, 1985 – 2002) eingegeben und anschließend von

einer dritten Person auf Unstimmigkeiten überprüft und gegebenenfalls nach dem Originaldatenblatt korrigiert. Die statistischen Berechnungen wurden mit dem Programm „JMP 5.0.1“ von SAS durchgeführt. Kontingenztafeln und der Chi-Quadrat-Test nach Pearson wurden herangezogen, um nominal skalierte Daten zwischen den Genotypen zu vergleichen. Vergleiche quantitativer Merkmale zwischen zwei Gruppen wurden mit dem Median-Test nach Wilcoxon durchgeführt. Dies ist ein nichtparametrischer Test zum Vergleich von Medianen, der keine Normalverteilung der Daten voraussetzt.

Da im Rahmen dieser Studie bei multiplen Paarvergleichen die Gefahr der Alpha-Kumulierung (erhöhte Wahrscheinlichkeit eines Fehlers 1. Art) gegeben ist, müsste bei signifikanten Ergebnissen eine Korrektur nach Bonferroni erfolgen. Da in dieser Studie jedoch keine signifikanten Ergebnisse zu verzeichnen sind, konnte darauf verzichtet werden (Perneger, 1998).

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Studienpopulation

Insgesamt wurden 112 Kinder aus 33 Familien zwischen September und Dezember 2001 in die Studie aufgenommen. Tabelle 3.1 zeigt die Anzahl untersuchter Familien ( $n_{\text{Familien}}$ ) mit einer bestimmten Anzahl Geschwisterkinder ( $n_{\text{Geschwister}}$ ).

**Tabelle 3.1: Anzahl der Familien  $n_{\text{Familien}}$  mit einer bestimmten Zahl Geschwisterkinder  $n_{\text{Geschwister}}$**

$n_{\text{Geschwister}}$	$n_{\text{Familien}}$
2	3
3	19
4	7
5	3
6	1

Hinsichtlich der Altersverteilung wurde innerhalb der Dörfer kein signifikanter Unterschied festgestellt ( $P = 0,98$  gemäß Median-Test nach Wilcoxon; Tabelle 3.2).

**Tabelle 3.2: Altersverteilung der Kinder in den einzelnen Dörfern**

Dorf	Alter (Jahre)	Alter (Jahre)
	Median	Spannweite
Agogo	8	1-12
Hwidiem	8,5	7-10
Juansa	7	2 -11
Domeabra	5	0,75-11
Kyegyebiase	5,5	1-12
Dawireso	6	2-11
Bimma	5	2-9
Obenimase	5	0,5-12
Patriensa	7	0,5-12
Nyaboo	5,5	2-10

Hinsichtlich der Verteilung der Kinder mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  wurde innerhalb der Dörfer kein signifikanter Unterschied festgestellt ( $P = 0,65$  gemäß Chi-Quadrat-Test nach Pearson; Tabelle 3.3).

**Tabelle 3.3: Anzahl der Kinder  $n_{Kind}$  mit Genotyp  $aa/aa$  und Genotyp  $-a/aa$  in den einzelnen Dörfern**

<b>Dorf</b>	<b><math>n_{Kind}</math> Genotyp <math>aa/aa</math></b>	<b><math>n_{Kind}</math> Genotyp <math>-a/aa</math></b>
Agogo	17	17
Hwidiem	1	1
Juansa	9	6
Domeabra	3	6
Kyekyebiase	3	3
Dawireso	4	2
Bimma	1	2
Obenimase	4	5
Patriensa	10	14
Nyaboo	4	4

Von 1680 möglichen Konsultationen wurden 25 versäumt, weil die Kinder aus unterschiedlichen Gründen nicht zur Verfügung standen (z.B. Abwesenheit der Eltern, Reise usw.). Somit betrug die Compliance 99%. Die Anwesenheitshäufigkeit zu den vereinbarten Terminen ist in Tabelle 3.4 dargestellt.

**Tabelle 3.4 : Anwesenheitshäufigkeit**

<b>Anzahl Anwesenheit zu vereinbarten Terminen</b>	<b><math>n_{Kind}</math></b>	<b>%</b>
15 (= kein Fehltermin)	92	82
14 (=1 Fehltermin)	16	14
13 (=2 Fehltermine)	3	3
12 (=3 Fehltermine)	1	1

$n_{Kind}$  = Anzahl der Kinder

Drei Kinder mit Genotyp  $-a/aa$  wurden während des Untersuchungszeitraums in einem Krankenhaus oder einem Health Center vorgestellt und dort medikamentös behandelt.

(Alter, Geschlecht, Medikament: fünf Jahre, männlich, Paracetamol; ein Jahr, weiblich, Paracetamol; sechs Monate, männlich, Chloroquin). Keines dieser Kinder fehlte bei der darauf folgenden Konsultation durch das Untersuchungs-Team.

Die Geschlechterverteilung unterschied sich zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  signifikant (Tabelle 3.5). Bei allen folgenden vergleichenden Tests zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  wurde daher zuvor geprüft, ob sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Geschlechtern ergibt. Wurde ein Unterschied zwischen den Geschlechtern festgestellt, wurde die Gruppe nochmals innerhalb des Geschlechts verglichen.

**Tabelle 3.5: Verteilung des Geschlechts**

Geschlecht	Genotyp $-a/aa$		Genotyp $aa/aa$		<i>P</i> (Chi-Quadrat-Test nach Pearson)
	<i>n<sub>Kind</sub></i>	%	<i>n<sub>Kind</sub></i>	%	
männlich	41	68	23	44	0,01*
weiblich	19	32	29	56	

\* = signifikant; *n<sub>Kind</sub>* = Anzahl der Kinder

Die Altersverteilung und die Körpergrößen unterschieden sich zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  nicht signifikant (Tabelle 3.6).

**Tabelle 3.6: Verteilung des Alters und der Körpergröße**

	Genotyp $-a/aa$	Genotyp $aa/aa$	<i>P</i> (Median-Test nach Wilcoxon)
	<i>n<sub>Kind</sub></i> = 60 Median [Spannweite]	<i>n<sub>Kind</sub></i> = 52 Median [Spannweite]	
<b>Alter (Jahre)</b>	6 [0,5-12]	7,5 [0,5-12]	0,70
<b>Körpergröße (cm)</b>	110 [70-154]	120 [72-143]	0,42

*n<sub>Kind</sub>* = Anzahl der Kinder; Genotyp  $-a/aa$ : *n<sub>Kind</sub>* = 60; Genotyp  $aa/aa$ : *n<sub>Kind</sub>* = 52

In einer vorangegangenen Studie konnte nachgewiesen werden, dass die Parasitendichten als Folge einer Chloroquintherapie noch bis zu zwei Wochen nach der Behandlung

reduziert waren (Evans et al., 2005). In unserer Studie konnte dieser Aspekt vernachlässigt werden, da sich hinsichtlich der Häufigkeit der durchgeführten Chloroquintherapien kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  ergab. Bei 13 Kindern mit Genotyp  $-a/aa$  wurde bei 884 durchgeführten klinischen Untersuchungen 19-mal (2%) und bei 13 Kindern mit Genotyp  $aa/aa$  bei 771 durchgeführten klinischen Untersuchungen 17-mal (2%) eine Therapie mit Chloroquin durchgeführt ( $P = 0,97$  Test nach Wilcoxon).

### **3.2 Vergleich zwischen Individuen mit Genotyp $-a/aa$ und $aa/aa$**

#### **3.2.1 Malaria-Parasiten**

##### **a) Qualitativer Parasitennachweis**

Der Parasitennachweis erfolgte aus wöchentlich angefertigten Blutentnahmen (Kapillarblut der Fingerbeere). Insgesamt wurden 1653 mikroskopische Untersuchungen auf Parasiten (jeweils ein dicker Tropfen und zwei Blutausrichthe) durchgeführt, in der Gruppe mit Genotyp  $-a/aa$  884 mikroskopische Untersuchungen auf Parasiten und in der Gruppe mit Genotyp  $aa/aa$  769 mikroskopische Untersuchungen auf Parasiten; entsprechend 98% bzw. 99% der theoretisch möglichen mikroskopischen Untersuchungen auf Parasiten. Sowohl bei der Gruppe mit Genotyp  $-a/aa$  als auch bei der Gruppe mit Genotyp  $aa/aa$  wurden im Median 15 mikroskopische Untersuchungen auf Parasiten pro Kind angefertigt (Gruppe mit Genotyp  $-a/aa$ : Median = 15, Spannweite 12-15; Gruppe mit Genotyp  $aa/aa$ : Median = 15, Spannweite 13-15;  $P = 0,86$  gemäß Median-Test nach Wilcoxon). Eine Infektion mit *P. ovale* trat insgesamt nur viermal auf (zweimal bei der Gruppe mit Genotyp  $-a/aa$  und zweimal bei der Gruppe mit Genotyp  $aa/aa$ ) und wurde auf Grund der Seltenheit bei den folgenden Berechnungen vernachlässigt.

Über den Studienzeitraum betrachtet lagen die Punktprävalenzen für *P.falciparum*-Infektionen für die Gruppe mit Genotyp  $-a/aa$  zu vier Zeitpunkten im hyperendemischen (>50%) und zu elf Zeitpunkten im mesoendemischen (11-50%) Bereich. Für die Gruppe mit Genotyp  $aa/aa$  lagen die Punktprävalenzen für *P.falciparum*-Infektionen zu vier Zeitpunkten im hyperendemischen (>50%), zu zehn Zeitpunkten im mesoendemischen (11-50%) und zu einem Zeitpunkt im hypoendemischen (0,1-10%) Bereich (Löscher und Burchard, 2008) (Abbildung 3.1).

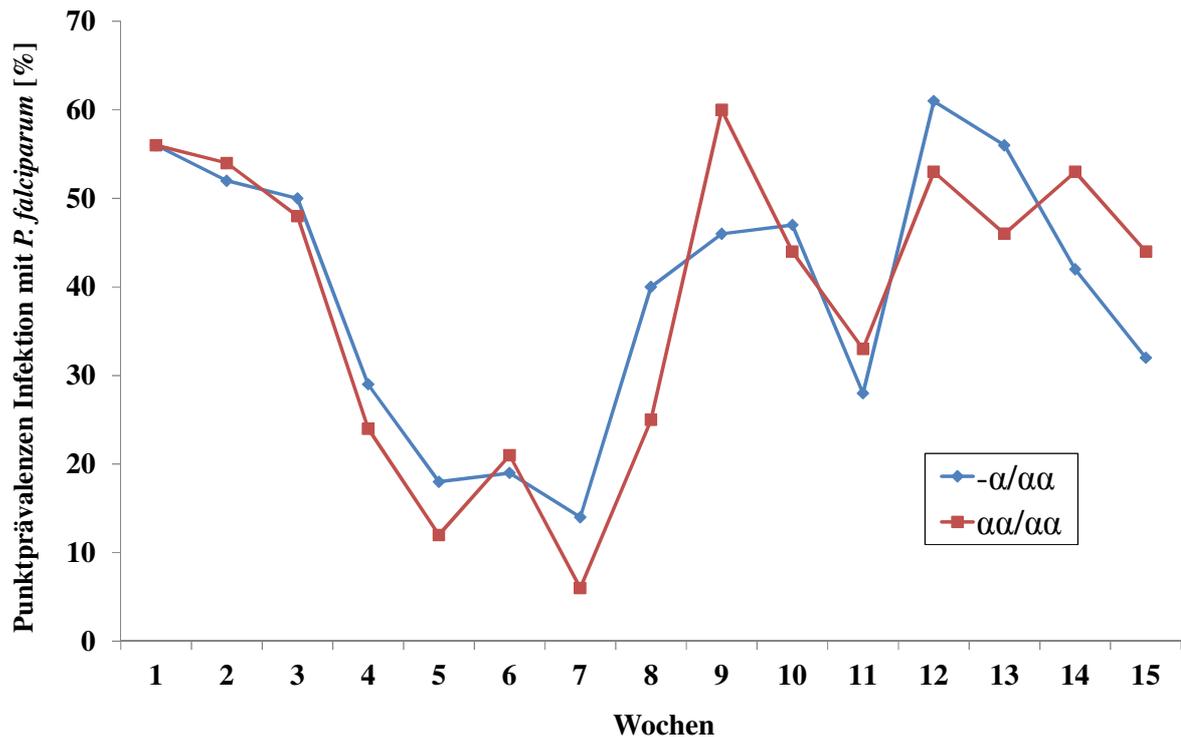


Abbildung 3.1: Punktprävalenzen (%) für Infektion mit *P. falciparum*

In Tabelle 3.7 sind für die Gruppen mit Genotyp  $-a/a\alpha$  und  $a\alpha/a\alpha$  über den Studienzeitraum betrachtet die absolute Anzahl von Parasitennachweisen  $n_{tot}$  (*Parasiten*) und deren prozentualer Anteil an der Anzahl aller mikroskopischen Untersuchungen auf Parasiten  $n_{totrel}$  (*Parasiten*) in der jeweiligen Genotypgruppe, stratifiziert nach den Plasmodienspezies, dargestellt. Die Unterschiede zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/a\alpha$  und  $a\alpha/a\alpha$  sind nicht signifikant.

Tabelle 3.7: Gesamtanzahl positiver mikroskopischer Untersuchungen auf Parasiten  $n_{tot}$  (*Parasiten*) und prozentualer Anteil positiver Untersuchungen an der Anzahl aller Untersuchungen  $n_{totrel}$  (*Parasiten*) für beide Genotypgruppen

Plasmodien- spezies	Genotyp $-a/a\alpha$	Genotyp $-a/a\alpha$	Genotyp $a\alpha/a\alpha$	Genotyp $a\alpha/a\alpha$	$P$ (Chi- Quadrat-Test nach Pearson)
	$n_{tot}$ ( <i>Parasiten</i> )	$n_{totrel}$ ( <i>Parasiten</i> )	$n_{tot}$ ( <i>Parasiten</i> )	$n_{totrel}$ ( <i>Parasiten</i> )	
<i>P. falciparum</i>	347	39	297	39	0,79
<i>P. malariae</i>	99	11	110	14	0,60

Genotyp  $-a/a\alpha$ : Anzahl Kinder  $n_{kind} = 60$ ; Gesamtzahl Untersuchungen = 884; Genotyp  $a\alpha/a\alpha$ :  
Anzahl Kinder  $n_{kind} = 52$ ; Gesamtzahl Untersuchungen = 769.

Zum Vergleich des individuellen Parasitenbefalles wurde der Median des Anteils der jeweils bei einem Kind erhobenen Anzahl positiver Untersuchungen an der Gesamtzahl der longitudinal angefertigten Untersuchungen desselben Kindes  $n_{indrel}$  (*Parasiten*) zwischen den Genotypgruppen, stratifiziert nach den Plasmodienspezies, verglichen (Tabelle 3.8).

**Tabelle 3.8: Median  $n_{indrel}$  (*Parasiten*) und Spannweite des prozentualen Anteils der jeweils bei einem einzelnen Kindes erhobenen Anzahl positiver Untersuchungen an der Gesamtzahl der longitudinal angefertigten Untersuchungen desselben Kindes**

Plasmodien- spezies	Genotyp -a/aa	Genotyp aa/aa	P (Median-Test nach Wilcoxon)
	$n_{indrel}$ ( <i>Parasiten</i> ) [Spannweite]	$n_{indrel}$ ( <i>Parasiten</i> ) [Spannweite]	
<i>P. falciparum</i>	40 [0-87]	40 [0-87]	0,83
<i>P. malariae</i>	13 [0-33]	7 [0-60]	0,80

Genotyp -a/aa: Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 60$ ; Gesamtzahl Untersuchungen = 884; Genotyp aa/aa: =Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 52$ ; Gesamtzahl Ausstriche = 769.

Zwischen den Genotypgruppen wurde die Anzahl der Kinder verglichen, bei denen über die 15-wöchige prospektive Probenentnahme mindestens einmal ( $\geq 1$ ) bzw. keinmal (0) eine Parasitämie mit *P.falciparum* ( $= n_{P.falc}$ ) bzw. mit *P. malariae* ( $= n_{P.mal}$ ) nachgewiesen wurde.

Lediglich bei einem Kind mit Genotyp -a/aa und bei einem Kind mit Genotyp aa/aa konnte während des Studienzeitraums kein einziges Mal eine Infektion mit *P. falciparum* nachgewiesen werden. Alle anderen Kinder wiesen mindestens einmal eine derartige Infektion auf (Tabelle 3.9). Die Periodenprävalenz lag für beide Genotypgruppen bei 98%. Bei mehr als der Hälfte der Kinder wurde bei beiden Gruppen mindestens einmal eine Infektion mit *P. malariae* nachgewiesen. Die Periodenprävalenz lag für die Genotypgruppe -a/aa bei 72% und für die Genotypgruppe aa/aa bei 65% (Tabelle 3.10). Bei beiden Infektionstypen unterscheiden sich die Häufigkeiten für zumindest einmaligen Nachweis zwischen den Gruppen mit Genotyp -a/aa und aa/aa nicht signifikant.

**Tabelle 3.9 : Anzahl der Kinder  $n_{P.falc}$ , bei denen über die 15-wöchige prospektive Probenentnahme mindestens einmal ( $\geq 1$ ) bzw. keinmal (0) eine Parasitämie mit *P. falciparum* nachgewiesen wurde**

Anzahl Nachweise von <i>P.</i> <i>falciparum</i>	Genotyp -a/aa $n_{P.falc}$	Genotyp aa/aa $n_{P.falc}$	<i>P</i> (Chi- Quadrat-Test nach Pearson)
0	1	1	0,92
$\geq 1$	59	51	

**Tabelle 3.10 : Anzahl der Kinder  $n_{P.mal}$ , bei denen über die 15-wöchige prospektive Probenentnahme mindestens einmal ( $\geq 1$ ) bzw. keinmal (0) eine Parasitämie mit *P. malariae* nachgewiesen wurde**

Anzahl Nachweise von <i>P.</i> <i>malariae</i>	Genotyp -a/aa $n_{P.mal}$	Genotyp aa/aa $n_{P.mal}$	<i>P</i> (Chi- Quadrat-Test nach Pearson)
0	17	18	0,47
$\geq 1$	43	34	

### **b) Parasitendichte (*P. falciparum*)**

Wurde in den mikroskopischen Untersuchungen auf Parasiten eine Parasitämie mit *P. falciparum* diagnostiziert, erfolgte die Bestimmung der Parasitendichte. Die Parasitendichte wurde im dicken Tropfen (aus Kapillarblut der Fingerbeere) pro 200 Leukozyten ausgezählt und auf einen  $\mu\text{l}$  Blut umgerechnet (Tabelle 3.11). Verglichen wurde der Median der 75% Quantilen der pro Kind über 15 Wochen longitudinal ausgezählten, individuellen Parasitendichten  $n_{Dichte}$ .

In der Gruppe mit Genotyp -a/aa wurden 312 dicke Tropfen entsprechend 90% der nachgewiesenen *P. falciparum*-Parasitämien ausgezählt, in der Gruppe mit Genotyp aa/aa wurden 261 dicke Tropfen entsprechend 80% der nachgewiesenen *P. falciparum*-Parasitämien ausgezählt. Im Median der Auszählungen wurden bei beiden Gruppen fünf dicke Tropfen pro Kind ausgezählt (Gruppe mit Genotyp -a/aa: Median = 5, Spannweite 0-

10; Gruppe mit Genotyp  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$  Median = 5, Spannweite 0-11;  $P = 0,71$  Median-Test nach Wilcoxon).

Bezüglich der Parasitendichten konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-\alpha/\alpha\alpha$  und  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$  festgestellt werden, auch nicht wenn zusätzlich nach asymptomatischen Zeitpunkten und Zeitpunkten einer Malaria stratifiziert wurde.

**Tabelle 3.11: Median  $n_{Dichte}$  und Spannweite der 75%-Quantile der pro Kind longitudinal über 15 Wochen ausgezählten, individuellen Parasitendichten von *P.falciparum* (Parasiten/  $\mu$ l)**

<i>Parasitendichte P. falciparum (Parasiten/ <math>\mu</math>l)</i>	<i>Genotyp <math>-\alpha/\alpha\alpha</math> <math>n_{Dichte}</math> [Spannweite]</i>	<i>Genotyp <math>\alpha\alpha/\alpha\alpha</math> <math>n_{Dichte}</math> [Spannweite]</i>	<i>P (Median-Test nach Wilcoxon)</i>
<i>gesamt</i>	<i>140 [20-15240]</i>	<i>180 [20-11760]</i>	<i>0,90</i>
<i>zu malariafreien Zeitpunkten</i>	<i>100 [20-9960]</i>	<i>125 [20-11760]</i>	<i>0,86</i>
<i>zu Zeitpunkten einer Malaria</i>	<i>2360 [40-63120]</i>	<i>1240 [40-64480]</i>	<i>0,97</i>

Genotyp  $-\alpha/\alpha\alpha$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 60$ ; Gesamtzahl ausgezählte dicke Tropfen = 312; Genotyp  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 52$ ; Gesamtzahl ausgezählte dicke Tropfen = 261.

### 3.2.2 Fieber und Temperatur

#### a) Fieberepisoden

Insgesamt konnte 1660-mal eine Aussage zur Körpertemperatur (aktuell gemessene aurikuläre Temperatur oder durch Anamnese erhobene Fieberepisode) gemacht werden (Gruppe mit Genotyp  $-\alpha/\alpha\alpha$  888-mal, Gruppe mit Genotyp  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$  772-mal; bei beiden Gruppen entsprechend 99% der theoretisch möglichen Anzahl der Prüfungen der Körpertemperatur). Je Kind wurden im Median 15 Prüfungen der Körpertemperatur durchgeführt (Gruppe mit Genotyp  $-\alpha/\alpha\alpha$ : Median = 15, Spannweite 12-15; Gruppe mit Genotyp  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ : Median = 15, Spannweite 13-15;  $P = 0,96$  gemäß Median-Test nach

Wilcoxon).

In Tabelle 3.12 ist die Anzahl der Fieberepisoden (aktuelle oder anamnestische aurikuläre Temperatur  $>37,7$  °C)  $n_{tot}$  (Fieber) und deren prozentualer Anteil an allen Prüfungen der Körpertemperatur  $n_{totrel}$  (Fieber) in der jeweiligen Genotypgruppe dargestellt. Der Unterschied zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  ist nicht signifikant.

**Tabelle 3.12: Gesamtanzahl Fieberepisoden  $n_{tot}$  (Fieber) und prozentualer Anteil Fieberepisoden an allen Prüfungen der Körpertemperatur  $n_{totrel}$  (Fieber) für beide Genotypgruppen.**

	Genotyp $-a/aa$ $n_{tot}$ (Fieber)	Genotyp $-a/aa$ $n_{totrel}$ (Fieber)	Genotyp $aa/aa$ $n_{tot}$ (Fieber)	Genotyp $aa/aa$ $n_{totrel}$ (Fieber)	$P$ (Chi- Quadrat-Test nach Pearson)
<b>Fieber- episoden</b>	96	11	82	11	0,90

Genotyp  $-a/aa$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 60$ ; Gesamtzahl Aussagen zur Körpertemperatur = 888; Genotyp  $aa/aa$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 52$ ; Gesamtzahl Aussagen zur Körpertemperatur = 772.

Zum Vergleich der individuellen Fieberepisoden wurde der Median des Anteils der pro Kind erhobenen Anzahl von Fieberepisoden an der Gesamtzahl der longitudinal erhobenen Prüfungen der Körpertemperatur desselben Kindes  $n_{indrel}$  (Fieber) zwischen den Genotypgruppen verglichen (Tabelle 3.13). Der Unterschied zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  ist nicht signifikant.

**Tabelle 3.13: Median  $n_{indrel}$  (Fieber) und Spannweite des prozentualen Anteils der pro Kind erhobenen Anzahl von Fieberepisoden an der Gesamtanzahl der longitudinal erhobenen Prüfungen der Körpertemperatur desselben Kindes**

	Genotyp $-a/aa$ $n_{indrel}$ (Fieber) [Spannweite]	Genotyp $aa/aa$ $n_{indrel}$ (Fieber) [Spannweite]	$P$ (Median-Test nach Wilcoxon)
<b>Fieberepisoden</b>	7 [0-40]	7 [0-30]	0,94

Genotyp  $-a/aa$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 60$ ; Genotyp  $aa/aa$ : =Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 52$ .

Zwischen den Genotypgruppen wurde die Anzahl der Kinder verglichen, bei denen über die 15-wöchige prospektive Probenentnahme mindestens einmal ( $\geq 1$ ) bzw. keinmal (0) eine Fieberepisode  $n_{Fieber}$  nachgewiesen wurde (Tabelle 3.14). Die Periodenprävalenz für eine Fieberepisode lag für die Genotypgruppe  $-a/aa$  bei 70% und für die Genotypgruppe  $aa/aa$  bei 73%, wobei zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  keine signifikanten Unterschiede festgestellt wurden.

**Tabelle 3.14: Anzahl der Kinder  $n_{Fieber}$ , bei denen über die 15-wöchige prospektive Probenentnahme mindestens einmal ( $\geq$ ) bzw. keinmal (0) eine Fieberepisode nachgewiesen wurde**

Anzahl Fieber- episoden	Genotyp $-a/aa$ $n_{Fieber}$	Genotyp $aa/aa$ $n_{Fieber}$	$P$ (Chi- Quadrat-Test nach Pearson)
0	18	14	0,72
$\geq 1$	42	38	

## b) Temperatur

Die Körpertemperatur wurde wöchentlich mittels einer aurikulären Temperaturmessung ermittelt (Tabelle 3.15). Verglichen wurde der Median der pro Kind über 15 Wochen longitudinal gemessenen aurikulären Temperaturen  $n_{Temp}$ . Bei der Gruppe mit Genotyp  $-a/aa$  wurden 878, bei der Gruppe mit Genotyp  $aa/aa$  wurden 763 aurikuläre Temperaturmessungen durchgeführt, entsprechend je 98% der theoretisch möglichen Anzahl an Messungen. Im Median wurden bei beiden Gruppen 15 Temperaturmessungen pro Kind durchgeführt (Gruppe mit Genotyp  $-a/aa$ : Median = 15, Spannweite 11-15; Gruppe mit Genotyp  $aa/aa$ : Median = 15, Spannweite 13-15;  $P = 0,96$  gemäß Median-Test nach Wilcoxon). Es ergibt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$ .

**Tabelle 3.15: Median  $n_{Temp}$  und Spannweite der pro Kind longitudinal über 15 Wochen gemessenen individuellen, aurikulären Körpertemperatur (°C)**

<i>Temperatur (°C)</i>	<i>Genotyp -<math>\alpha/\alpha</math> <math>n_{Temp}</math> [Spannweite]</i>	<i>Genotyp <math>\alpha\alpha/\alpha\alpha</math> <math>n_{Temp}</math> [Spannweite]</i>	<i>P Median-Test nach Wilcoxon</i>
<i>gesamt</i>	<i>36,6 [35,6-37,3]</i>	<i>36,6 [35,9-37,3]</i>	<i>0,43</i>
<i>zu fieberfreien Zeitpunkten</i>	<i>36,6 [35,7-37,3]</i>	<i>36,6 [36,0-37,3]</i>	<i>0,40</i>
<i>zu Zeitpunkten einer Fieberepisode</i>	<i>38,1 [37,9-38,6]</i>	<i>37,9 [37,8-38,6]</i>	<i>0,30</i>

Genotyp - $\alpha/\alpha$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 60$ ; Gesamtzahl Messungen der aurikulären Körpertemperatur = 878;

Genotyp  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 52$ ; Gesamtzahl Messungen der aurikulären Körpertemperatur = 763.

### 3.2.3 Hämatokrit und Anämie

Da die Erhebung der Hämatokrit-Werte nur alle zwei Wochen und nicht synchron erfolgte, wurden bei der Auswertung die Daten der aufeinander folgenden ungeraden und geraden Wochen zusammen betrachtet.

779-mal konnte ein verwertbarer Hämatokrit-Wert bestimmt werden (Gruppe mit Genotyp - $\alpha/\alpha$  417-mal, Gruppe mit Genotyp  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$  362-mal, bei beiden Gruppen entspricht dieses 93% der maximalen Anzahl bestimmbarer Hämatokrit-Werte). Im Median wurde je Kind bei beiden Gruppen siebenmal der Hämatokrit-Wert bestimmt (Gruppe mit Genotyp - $\alpha/\alpha$ : Median = 7, Spannweite 6-8; Gruppe mit Genotyp  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ : Median = 7, Spannweite 5-8;  $P = 0,56$  gemäß Median-Test nach Wilcoxon).

#### a) Anämie-Ereignisse

Mittels des Hämatokritwertes wurde altersabhängig ein Anämie-Ereignis diagnostiziert (s. Material und Methoden). In Tabelle 3.16 ist die Anzahl der Anämie-Ereignisse  $n_{tot}$

(Anämie) und deren prozentualer Anteil an allen Hämatokritmessungen  $n_{totrel}$  (Anämie) in der jeweiligen Genotypgruppe dargestellt. Die Unterschiede zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  sind nicht signifikant.

**Tabelle 3.16: Gesamtzahl der Anämie-Ereignisse  $n_{tot}$  (Anämie) und prozentualer Anteil der Anämie-Ereignisse an allen Hämatokritmessungen  $n_{totrel}$  (Anämie) für beide Genotypgruppen**

	Genotyp $-a/aa$ $n_{tot}$ (Anämie)	Genotyp $-a/aa$ $n_{totrel}$ (Anämie)	Genotyp $aa/aa$ $n_{tot}$ (Anämie)	Genotyp $aa/aa$ $n_{totrel}$ (Anämie)	$P$ (Chi- Quadrat-Test nach Pearson)
Anämie- Ereignisse	185	44%	170	47%	0,53

Genotyp  $-a/aa$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 60$ ; Gesamtzahl gemessener Hämatokritwerte = 417; Genotyp  $aa/aa$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 52$ ; Gesamtzahl gemessener Hämatokritwerte = 362.

Zum Vergleich der individuellen Anämie-Ereignisse wurde der Median des Anteils der pro Kind erhobenen Anzahl von Anämie-Ereignissen an der Gesamtzahl der longitudinal erhobenen Hämatokritwerte desselben Kindes  $n_{indrel}$  (Anämie) zwischen den Genotypgruppen verglichen (Tabelle 3.17). Der Unterschied zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  ist nicht signifikant.

**Tabelle 3.17: Median  $n_{indrel}$  (Anämie) und Spannweite des prozentualen Anteils der pro Kind erhobenen Anzahl von Anämie-Ereignissen an der Gesamtzahl der longitudinal erhobenen Hämatokritwerte desselben Kindes**

	Genotyp $-a/aa$ $n_{indrel}$ (Anämie) [Spannweite]	Genotyp $aa/aa$ $n_{indrel}$ (Anämie) [Spannweite]	$P$ Median-Test nach Wilcoxon
Anämie- Ereignisse	38% [0-100]	57% [0-100]	0,85

Genotyp  $-a/aa$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 60$ ; Genotyp  $aa/aa$ : =Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 52$ .

Zwischen den Genotypgruppen wurde die Anzahl der Kinder  $n_{Anämie}$  verglichen, bei denen über die 15-wöchige prospektive Probenentnahme mindestens einmal ( $\geq 1$ ) bzw. keinmal (0) ein Anämie-Ereignis nachgewiesen wurde (Tabelle 3.18). Die Periodenprävalenz für

ein Anämie-Ereignis lag für die Genotypgruppe  $-a/aa$  bei 90% und für die Genotypgruppe  $aa/aa$  bei 87%. Zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  trat kein signifikanter Unterschied auf.

**Tabelle 3.18: Anzahl der Kinder  $n_{Anämie}$ , bei denen über die 15-wöchige prospektive Probenentnahme mindestens einmal ( $\geq 1$ ) bzw. keinmal (0) ein Anämie-Ereignis nachgewiesen wurde**

Anzahl Anämie-Ereignisse	Genotyp $-a/aa$ $n_{Anämie}$	Genotyp $aa/aa$ $n_{Anämie}$	$P$ (Chi-Quadrat-Test nach Pearson)
0	6	7	0,57
$\geq 1$	54	45	

## b) Hämatokrit

Im Weiteren erfolgte zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  ein Vergleich der Hämatokrit-Werte  $n_{Häm}$  (Tabelle 3.19). Die Unterschiede sind nicht signifikant.

Verglichen wurden:

- die Mediane der longitudinal erhobenen Hämatokrit-Werte eines jeden Kindes, um nachzuweisen, ob sich im Allgemeinen Unterschiede im Hämatokrit-Wert ergeben.
- die 25%-Quantilen der über den Studienzeitraum datierten Hämatokrit-Werte eines jeden Kindes, um zu eruieren, ob bei einer der Untersuchungsgruppen anämische Zustände häufiger sind.
- die 75%-Quantilen des maximalen Hämatokrit-Verlustes/Tag um zu eruieren, ob bei einem der beiden Genotypgruppen ein stärkerer plötzlicher Hämatokrit-Abfall als bei der anderen Genotypgruppe zu beobachten ist.
- die 75%-Quantilen des maximalen Hämatokrit-Anstieges/Tag um zu eruieren, ob einer der beiden Genotypgruppen einen Hämatokritverlust schneller wieder rekompensieren kann.

**Tabelle 3.19: Median  $n_{Häm}$  und Spannweite der longitudinal über 15 Wochen gemessenen Hämatokritwerte (%)**

<i>Hämatokrit (%)</i>	<i>Genotyp -a/aa <math>n_{Häm}</math> [Spannweite]</i>	<i>Genotyp aa/aa <math>n_{Häm}</math> [Spannweite]</i>	<i>P (Median-Test nach Wilcoxon)</i>
<i>Median</i>	35 [26-40]	35 [28-42]	0,77
<i>25% Quantile</i>	32 [24-40]	33 [22-40]	0,53
<i>Hämatokrit-Verlust / Tag 75%-Quantile</i>	-0,36 [-1,14- -0,07]	-0,36 [-1,21- -0,07]	0,35
<i>Hämatokrit-Anstieg / Tag 75%-Quantile</i>	0,44 [0,07-1,14]	0,31 [0,07-2,00]	0,14

Genotyp -a/aa: Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 60$ ; Gesamtzahl gemessene Hämatokritwerte = 417; Genotyp aa/aa: Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 52$ ; Gesamtzahl gemessene Hämatokritwerte = 362.

### 3.2.4 Milzvolumen

Innerhalb des Studienzeitraums wurde bei 109 Kindern viermal im Abstand von vier Wochen sonographisch das Milzvolumen bestimmt. Bei drei Kindern der Gruppe mit Genotyp -a/aa erfolgten nur drei Milzvermessungen. Der Absolutwert des gemessenen Milzvolumens wurde mit einem Soll-Milzvolumen (abhängig von der Körpergröße) in Relation gesetzt, um eine relative Milzvergrößerung zu ermitteln. Es wurde der Median der pro Kind viermalig longitudinal erhobenen relativen Milzvergrößerungen  $n_{Milz}$  zwischen den Gruppen mit Genotyp -a/aa und aa/aa verglichen. Im Median waren bei beiden Genotypen die Milzen um den Faktor 2,9 gegenüber dem Sollvolumen vergrößert (Tabelle 3.20). Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen wurden nicht nachgewiesen.

**Tabelle 3.20: Median  $n_{Milz}$  und Spannweite der pro Kind viermalig longitudinal erhobenen relativen Milzvergrößerungen**

	<b>Genotyp <math>-a/aa</math></b>	<b>Genotyp <math>aa/aa</math></b>	<b><math>P</math> (Chi- Quadrat-Test nach Pearson)</b>
	<b><math>n_{Milz}</math> [Spannweite]</b>	<b><math>n_{Milz}</math> [Spannweite]</b>	
<b>Milzver- größerung</b>	2,9 [1,2-12,0]	2,9 [1,4-5,4]	0,77

Genotyp  $-a/aa$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 60$ ; Gesamtzahl Milzvermessungen = 237; Genotyp  $aa/aa$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 52$ ; Gesamtzahl Milzvermessungen = 208.

### 3.2.5 Malaria tropica

Eine Malariadiagnose (Malaria tropica) wurde gestellt, wenn in den Blutausstrichen Plasmodien (*P. falciparum*) nachgewiesen werden konnten und die aurikulär gemessene Körpertemperatur  $> 37,7$  °C betrug oder anamnestisch Fieber in der vergangenen Woche angegeben wurde. 1652-mal konnte eine Aussage zu einer Malariadiagnose gemacht werden (Gruppe mit Genotyp  $-a/aa$  883; Gruppe mit Genotyp  $aa/aa$  769; entsprechend 98% bzw. 99% der maximalen Anzahl möglicher Malariaaussagen). Im Median wurde bei beiden Gruppen pro Kind im Studienzeitraum 15-mal eine Aussage zu Malaria getroffen (Gruppe mit Genotyp  $-a/aa$ : Median = 15, Spannweite 12-15; Gruppe mit Genotyp  $aa/aa$ : Median = 15 Spannweite 13-15;  $P = 0,70$  gemäß Median-Test nach Wilcoxon).

Bei beiden Gruppen war bei der Mehrheit der Kinder zu keinem Zeitpunkt eine Malaria diagnostizierbar. Bei beiden Gruppen erkrankte ein Kind maximal viermal an einer Malaria. Bei beiden Gruppen konnte bei 13% der positiven Ausstriche für *P. falciparum* eine Malaria diagnostiziert werden.

In Abbildung 3.2 sind die Punktprävalenzen für eine Malaria tropica abgebildet.

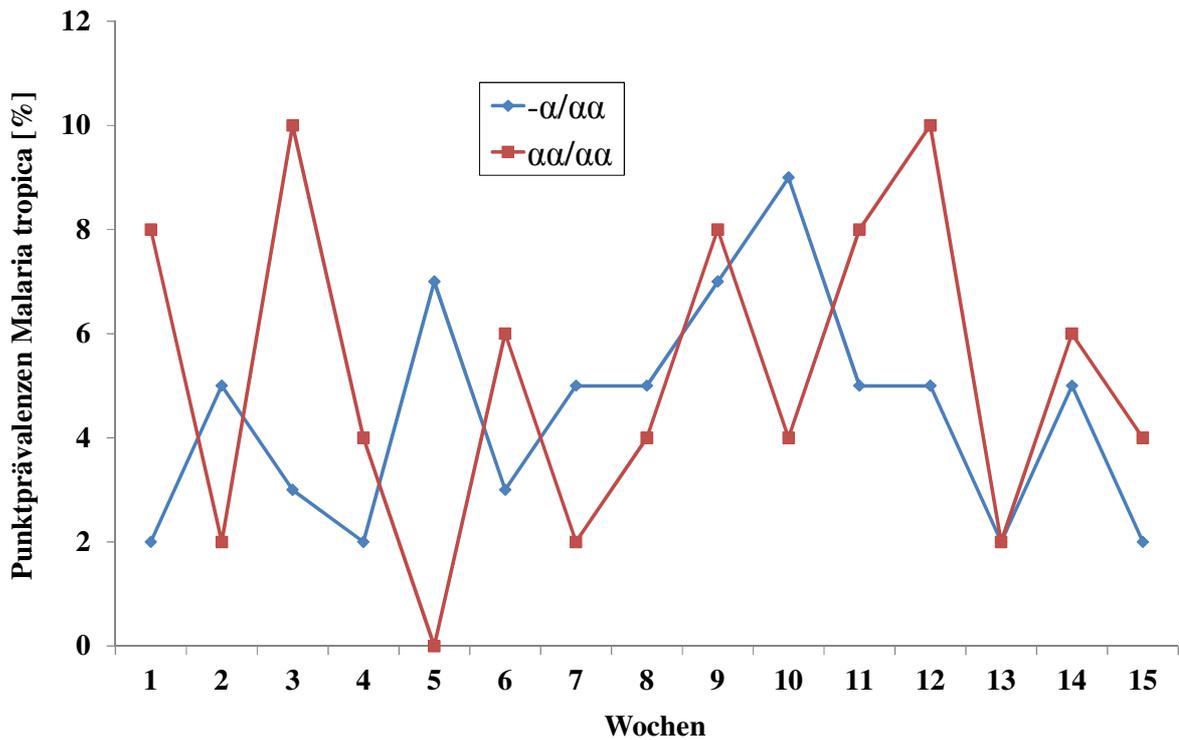


Abbildung 3.2: Punktprävalenzen (%) für Malaria tropica

In Tabelle 3.21 ist die Anzahl der Malariaepisoden für Malaria tropica  $n_{tot}$  (Malaria) und deren prozentualer Anteil an allen Aussagen zu einer Malariadiagnose  $n_{totrel}$  (%) (Malaria) in der jeweiligen Genotypgruppe dargestellt. Der Unterschied zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  ist nicht signifikant.

Tabelle 3.21: Gesamtzahl Malariaepisoden (Malaria tropica)  $n_{tot}$  (Malaria) und prozentualer Anteil Malariaepisoden an allen Aussagen zu einer Malariadiagnose  $n_{totrel}$  (Malaria)

	Genotyp $-a/aa$ $n_{tot}$ (Malaria)	Genotyp $-a/aa$ $n_{totrel}$ (Malaria)	Genotyp $aa/aa$ $n_{tot}$ (Malaria)	Genotyp $aa/aa$ $n_{totrel}$ (Malaria)	$P$ (Chi- Quadrat-Test nach Pearson)
Malaria- episoden (Malaria tropica)	44	5%	39	5%	0,93

Genotyp  $-a/aa$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 60$ ; Gesamtzahl Aussagen zur Malariadiagnose = 883; Genotyp  $aa/aa$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 52$ ; Gesamtzahl Aussagen zur Malariadiagnose = 769.

Zum Vergleich der individuellen Malariaepisoden wurde der Median des Anteils der pro Kind erhobenen Anzahl von Malariaepisoden (*Malaria tropica*) an der Gesamtzahl der longitudinal erhobenen Aussagen zu einer Malariadiagnose desselben Kindes  $n_{indrel}$  (*Malaria*) zwischen den Genotypgruppen verglichen (Tabelle 3.22). Der Unterschied zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  ist nicht signifikant.

**Tabelle 3.22: Median  $n_{indrel}$  (*Malaria*) und Spannweite des prozentualen Anteils der pro Kind erhobenen Anzahl von Malariaepisoden (*Malaria tropica*) an der Gesamtzahl der longitudinal erhobenen Aussagen zu einer Malariadiagnose**

	<b>Genotyp <math>-a/aa</math></b> $n_{indrel}$ ( <i>Malaria</i> ) [Spannweite]	<b>Genotyp <math>aa/aa</math></b> $n_{indrel}$ ( <i>Malaria</i> ) [Spannweite]	<b><math>P</math> (Median-Test nach Wilcoxon)</b>
<b>Malaria- episoden (<i>Malaria tropica</i>)</b>	0% [0-27%]	3% [0-27%]	0,59

Genotyp  $-a/aa$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 60$ ; Genotyp  $aa/aa$ : =Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 52$ .

Im Vergleich zwischen den Geschlechtern ist die individuelle Rate von Malariaepisoden bei den Mädchen signifikant höher als bei den Jungen ( $P = 0,04$  gemäß Median-Test nach Wilcoxon). Die Altersverteilung zwischen den Geschlechtern unterscheidet sich nicht signifikant, so dass sich o.g. Ergebnis nicht darauf zurückführen lässt (Alter in Jahren m: Median = 7, Spannweite 0,5-12; w: Median = 5,5, Spannweite 0,75-11;  $P = 0,20$  gemäß Median-Test nach Wilcoxon). Ein Vergleich der individuellen Malariaepisoden  $n_{indrel}$  (*Malaria*) zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  innerhalb der Geschlechter ergibt keinen signifikanten Unterschied (m: Gruppe mit Genotyp  $-a/aa$ : Median = 0, Spannweite 0-20; Gruppe mit Genotyp  $aa/aa$ : Median = 0, Spannweite 0-27;  $P = 0,65$  gemäß Median-Test nach Wilcoxon; w: Gruppe mit Genotyp  $-a/aa$ : Median = 0, Spannweite 7-27; Gruppe mit Genotyp  $aa/aa$ : Median = 0, Spannweite 7-20;  $P = 0,57$  gemäß Median-Test nach Wilcoxon).

Zwischen den Genotypgruppen wurde die Anzahl der Kinder  $n_{Malaria}$  verglichen, bei denen über die 15-wöchige prospektive Probenentnahme mindestens einmal ( $\geq 1$ ) bzw. keimmal (0) eine Malariaepisode für *Malaria tropica* nachgewiesen wurde (Tabelle 3.23). Die

Periodenprävalenz für eine Malariaepisode lag für die Genotypgruppe  $-a/aa$  bei 52% und für die Genotypgruppe  $aa/aa$  bei 58%. Zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

**Tabelle 3.23:** Anzahl der Kinder  $n_{Malaria}$ , bei denen über die 15-wöchige prospektive Probenentnahme mindestens einmal ( $\geq$ ) bzw. keinmal (0) eine Malariaepisode (Malaria tropica) nachgewiesen wurde

Anzahl Malaria-episoden	Genotyp $-a/aa$ $n_{Malaria}$	Genotyp $aa/aa$ $n_{Malaria}$	$P$ (Chi-Quadrat-Test nach Pearson)
0	29	22	0,38
$\geq 1$	31	30	

### 3.2.6 Nicht malariaassoziierte, fieberhafte und nicht fieberhafte Erkrankungen

Eine nicht malariaassoziierte, fieberhafte Erkrankung wurde bei aurikulär gemessener Körpertemperatur  $> 37,7$  °C oder bei anamnestisch angegebenem Fieber in der vergangenen Woche ohne Nachweis von Plasmodien im Blut diagnostiziert.

In Abbildung 3.3 sind die Punktprävalenzen nicht malariaassoziierter, fieberhafter Erkrankungen dargestellt.

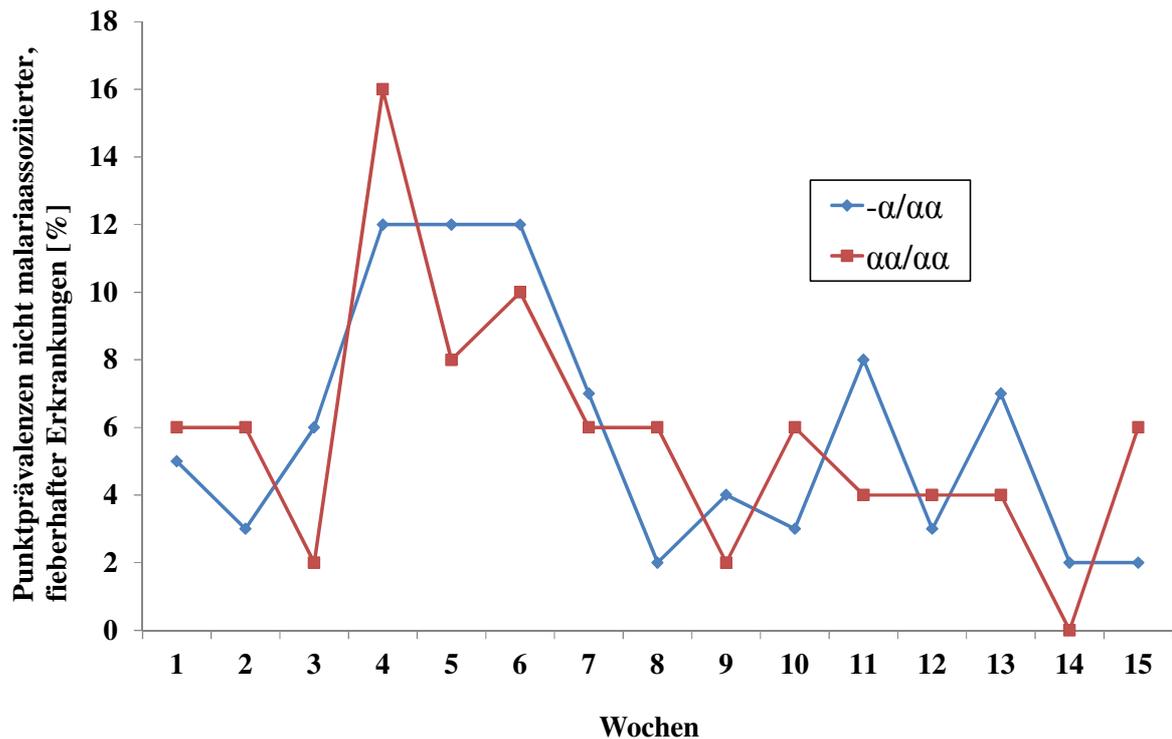


Abbildung 3.3: Punktprävalenzen (%) für nicht malariaassoziiertes, fieberhaftes Erkranken

95-mal (53%) war das Fieber nicht mit einer Malaria assoziiert, 52-mal (54%) in der Gruppe mit Genotyp  $-\alpha/\alpha\alpha$ , 43-mal (52%) in der Gruppe mit Genotyp  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ . Bei beiden Gruppen lag die Anzahl der nicht malariaassoziierten, fieberhaften Erkrankungen zwischen einmal bis viermal pro Kind. Bei beiden Gruppen war das Auftreten von Fieber in knapp über der Hälfte der Fälle nicht mit einer Malaria tropica assoziiert. In Tabelle 3.24 ist die Anzahl der Kinder mit Fieber  $n_{\text{KindFi}}$  stratifiziert nach malariaassoziierten und malariafreien Fieberepisoden und der entsprechende prozentuale Anteil  $n_{\text{KindFirel}}$  an der Gesamtheit der fieberhaften Erkrankungen dargestellt.

**Tabelle 3.24: Anzahl Kinder mit Fieber  $n_{KindFi}$  und deren prozentualer Anteil an fieberhaften Erkrankungen  $n_{KindFirel}$**

	Genotyp $-a/aa$ $n_{KindFi}$	Genotyp $-a/aa$ $n_{KindFirel}$	Genotyp $aa/aa$ $n_{KindFi}$	Genotyp $aa/aa$ $n_{KindFirel}$
<b>Fieber gesamt</b>	96	100%	82	100%
<b>Fieber malaria- assoziiert</b>	44	46%	39	48%
<b>Fieber bei sonstigen Erkrankungen</b>	52	54%	43	52%

Genotyp  $-a/aa$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 60$ ; Genotyp  $aa/aa$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 52$ .

In Tabelle 3.25 ist die Anzahl der nicht malariaassoziierten, fieberhaften Erkrankungen  $n_{tot}$  (*Krankheit*) und deren prozentualer Anteil an allen Aussagen zu einer nicht malariaassoziierten, fieberhaften Erkrankung  $n_{totrel}$  (*Krankheit*) in der jeweiligen Genotypgruppe dargestellt. Der Unterschied zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  ist nicht signifikant.

**Tabelle 3.25: Gesamtzahl nicht malariaassoziiertes, fieberhafter Erkrankungen  $n_{tot}$  (*Krankheit*) und prozentualer Anteil nicht malariaassoziiertes, fieberhafter Erkrankungen an allen Aussagen zu einer nicht malariaassoziierten, fieberhaften Erkrankung  $n_{totrel}$  (*Krankheit*)**

	Genotyp $-a/aa$ $n_{tot}$ ( <i>Krankheit</i> )	Genotyp $-a/aa$ $n_{totrel}$ ( <i>Krankheit</i> )	Genotyp $aa/aa$ $n_{tot}$ ( <i>Krankheit</i> )	Genotyp $aa/aa$ $n_{totrel}$ ( <i>Krankheit</i> )	$P$ (Chi- Quadrat-Test nach Pearson)
<b>Krankheits- episoden</b>	52	6%	43	6%	0,80

Genotyp  $-a/aa$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 60$ ; Gesamtzahl Aussagen zur Körpertemperatur = 888; Genotyp  $aa/aa$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 52$ ; Gesamtzahl Aussagen zur Körpertemperatur = 772.

Zum Vergleich der individuellen Episoden nicht malariaassoziiertes, fieberhafter Erkrankungen wurde der Median des Anteils der pro Kind erhobenen Anzahl von Episoden

nicht malariaassoziiertes, fieberhaftes Erkranken an der Gesamtzahl der longitudinal erhobenen Aussagen zu einer nicht malariaassoziierten, fieberhaften Erkrankung desselben Kindes  $n_{indrel}$  (*Krankheit*) zwischen den Genotypgruppen verglichen (Tabelle 3.26). Der Unterschied zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  ist nicht signifikant.

**Tabelle 3.26: Median  $n_{indrel}$  (*Krankheit*) und Spannweite des Anteils der pro Kind erhobenen Anzahl von Episoden nicht malariaassoziiertes, fieberhaftes Erkranken an der Gesamtzahl der longitudinal erhobenen Aussagen zu einer nicht malariaassoziierten, fieberhaften Erkrankung desselben Kindes**

	Genotyp $-a/aa$ $n_{indrel}$ ( <i>Krankheit</i> ) [Spannweite]	Genotyp $aa/aa$ $n_{indrel}$ ( <i>Krankheit</i> ) [Spannweite]	$P$ (Median-Test nach Wilcoxon)
<b>Krankheits- episoden</b>	7 [0-33]	3 [0-27]	0,68

Genotyp  $-a/aa$ : Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 60$ ; Genotyp  $aa/aa$ : =Anzahl Kinder  $n_{Kind} = 52$ .

Zwischen den Genotypgruppen wurde die Anzahl der Kinder verglichen, bei denen über die 15-wöchige prospektive Probenentnahme mindestens einmal ( $\geq 1$ ) bzw. keinmal (0) eine Episode einer nicht malariaassoziierten, fieberhaften Erkrankung  $n_{Krankh}$  nachgewiesen wurde (Tabelle 3.27). Die Periodenprävalenz für eine nicht malariaassoziierte, fieberhafte Erkrankung lag für die Genotypgruppe  $-a/aa$  bei 57% und für die Genotypgruppe  $aa/aa$  bei 50%. Zwischen den Gruppen mit Genotyp  $-a/aa$  und  $aa/aa$  wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt.

**Tabelle 3.27 : Anzahl der Kinder  $n_{Krankh}$ , bei denen mindestens einmal ( $\geq$ ) bzw. keinmal (0) eine nicht malariaassoziierte, fieberhafte Erkrankung nachgewiesen wurde**

Anzahl Krankheiten	Genotyp $-a/aa$ $n_{Krankh}$	Genotyp $aa/aa$ $n_{Krankh}$	$P$ (Chi- Quadrat-Test nach Pearson)
0	26	26	0,48
$\geq 1$	34	26	

Im Studienzeitraum wurde fünfmal eine medikamentöse Therapie auf Grund einer nicht fieberhaften Erkrankung durchgeführt. Dies traf auf fünf verschiedene Kinder des Genotypen  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$  zu (im Alter von einem bis zwölf Jahren), dreimal konnte zeitgleich eine Anämie diagnostiziert werden.

## 4. Diskussion

### 4.1 Studiendesign

Ziel dieser Arbeit ist, einen möglichen protektiven Einfluss der  $\alpha$ -Thalassämie Variante  $-\alpha$ <sup>3.7</sup> (Weatherall und Clegg, 2008) bei Kindern mit heterozygotem Genotyp ( $-\alpha/\alpha\alpha$ ) auf das Auftreten und den Verlauf von unkomplizierter Malaria nachzuweisen.

Die Untersuchung wurde in Form einer prospektiven, familiären, geschlossenen Kohortenstudie mit interner Vergleichsgruppe durchgeführt. Der Vorteil einer Kohortenstudie besteht darin, das Risiko abschätzen zu können, in der Beobachtungsperiode zu erkranken. Bei der Überprüfung einer ätiologischen Hypothese kann daher die kausale Zusammenhangsstruktur verifiziert werden. Die angestrebte Schätzung der so genannten Expositions-Wirkungs-Beziehung ist sehr verlässlich. Ein weiterer Vorteil ist, dass für eine Exposition die Wirkung auf verschiedene Parameter untersucht werden kann. Damit ist eine detaillierte, umfassende Beurteilung des Gesundheitsrisikos durch einen interessierenden Risikofaktor möglich.

Nachteile einer Kohortenstudie sind jedoch, dass die Untersuchungsbedingungen einem Wandel unterzogen sind und die Vergleichbarkeit der Kohorten dadurch gestört werden kann. Insgesamt aber besitzen Kohortenstudien als Inzidenzstudien einen hohen ätiologischen Erklärungswert (Kreienbrock und Schach, 2005).

Verglichen wurden Geschwisterkinder, von denen ein Elternteil Träger des Genotyp  $-\alpha/\alpha\alpha$ , der andere Elternteil hingegen Träger des Wildtyp (Genotyp  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ ) war. Genetisch betrachtet hatten die untersuchten Thalassämie-Träger (Genotyp  $-\alpha/\alpha\alpha$ ) und Wildtyp Kontrollen (Genotyp  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ ) den gleichen genetisch-familiären Hintergrund, was Einflüsse von möglichen Populationsstratifikationen auf die analysierten Phänotypen minimiert. Kritisch anzumerken ist hierbei, dass nicht überprüft wurde, ob es sich bei den angegebenen Geschwisterkindern auch tatsächlich um genetisch nachgewiesene Geschwister handelt. In einer anderen Studie, die in derselben Region durchgeführt wurde, konnte jedoch nachgewiesen werden, dass 95% der angegebenen Geschwisterkinder auch tatsächlich genetisch nachgewiesene Geschwister waren (Timmann et al., 2007). Die Studienpopulation war so selektioniert worden, dass beide Elternteile frei von den genetischen Varianten *HbS*, *HbC* und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel (G6PD-A(-)) waren (Timmann et al., 2007). Diese genetischen Varianten könnten für verschiedene Malaria-Erreger auf den Verlauf der Malariaerkrankung einen Effekt haben (Fleming et al., 1979; Ruwende et al., 1995; Modiano et al., 2001; Rihet et al., 2004, Louichareon et al., 2009). Äußere Einflussfaktoren

wie Ernährungszustand, Anwendung von Bettnetzen, Entfernung von Gesundheitszentren und Einnahme von Medikamenten in Eigenregie können die Malariamorbidity beeinflussen (Greenwood, 1989). Durch den intrafamiliären Vergleich konnten jedoch auch diese und andere Einflussfaktoren als der Genotyp  $-a/aa$  minimiert werden, da innerhalb von Geschwisterschaften von einer sehr ähnlichen Exposition bezüglich der Malariaübertragung ausgegangen werden kann und somit vermutlich die Aussagekraft erhöht wurde. Aus medizinischen und ethischen Gründen erfolgte bei Erkrankung, wenn notwendig, eine medikamentöse Therapie. Durch die Medikamenteneinnahme wurden möglicherweise die erhobenen Daten in Teilbereichen beeinflusst. Bei beiden Genotypen bestanden jedoch bezüglich der Häufigkeit von Malaria-wirksamen medikamentösen Therapien keine signifikanten Unterschiede, so dass Verzerrungen relativiert wurden. Die Altersverteilung innerhalb der Genotypen und die Verteilung der Genotypen in den Dörfern unterschieden sich nicht signifikant, so dass diesbezüglich keine wesentlichen Abweichungen der Ergebnisse zu erwarten sind. Unterschiedlich war jedoch die Verteilung des Geschlechts innerhalb der Genotypen, in der Gruppe des Genotyp  $-a/aa$  waren signifikant mehr Jungen als in der Gruppe des Genotyp  $aa/aa$ . Das Geschlecht übte jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die erhobenen Daten aus. Es wurde daher auf eine Korrektur der möglichen Konfounder Malariatherapie, Alter und Geschlecht verzichtet.

Die Compliance der Studiengruppe war mit 98,5% der Besuche sehr gut, und die hohe Anzahl auswertbarer Befunde in den Vergleichsgruppen erlaubt es, die Ergebnisse als repräsentativ anzusehen. In dieser Studie wurden mehrere statistische Signifikanztests mit den gleichen Daten durchgeführt. Es erfolgte also ein multiples Testen. Durch dieses multiple Testen erhöht sich die Wahrscheinlichkeit falsch positiver Ergebnisse, d.h. ein in Wahrheit nicht signifikantes Ergebnis erscheint signifikant. Die Nullhypothese wird dann fälschlicherweise zu Gunsten der Alternativhypothese verworfen. Um solch einen Fehler 1. Art zu vermeiden, sollte eine Korrektur nach Bonferroni erfolgen. Hierbei wird es dem einzelnen Test erschwert, statistisch signifikant zu sein. Die  $P$  Schwelle von 0,05 wird hierbei auf  $0,05 \times$  Anzahl der Testungen korrigiert um statistische Signifikanz zu erreichen. In der vorliegenden Studie wurde jedoch keine Assoziation mit einem Signifikanzniveau  $<0,05$  für die getesteten Phänotypen zwischen den Genotypgruppen festgestellt. Zudem ist die Gefahr erhöht, durch die Korrektur nach Bonferroni einen Fehler zweiter Art zu begehen, so dass signifikant wichtige Unterschiede nicht als solche erkannt werden und die Nullhypothese fälschlicherweise weiter angenommen wird (Perneger, 1998). Aus diesen Gründen wurde bei der Auswertung dieser Studie auf die Korrektur nach Bonferroni verzichtet. Wären genetische Effekte mit  $P < 0,05$  (ohne Korrektur auf multiples Testen) nachweisbar gewesen, hätten diese

daher in einer weiteren Replikationsstudie überprüft werden müssen. Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine explorative Studie mit einer verhältnismäßig kleinen Studiengruppe. Möglicherweise wurden deshalb, verursacht durch zu geringe statistische Power, tatsächlich vorhandene Unterschiede nicht mit hinreichendem Signifikanzniveau festgestellt (Fehler 2. Art), die in einer größeren Studie nachweisbar wären. In dieser Studie wurden erstmalig Geschwisterkinder mit unterschiedlichen  $\alpha$ -Globin-Genostatus in engen zeitlichen, nämlich wöchentlichen, Abständen bezüglich verschiedener malariolometrischer Parameter als Phenotypen untersucht.

## 4.2 Parasiten

Die Bestimmung der Parasitendichte im Ausstrich unterliegt einem gewissen Fehler, da die Ergebnisse einer Stichprobe auch nach mehrmaligem Auszählen zufallsbedingt oder durch Zählfehler bedingt variieren können. Ein Unterschied bis zum 1,5fachen 10er Logarithmus wird jedoch als tolerabel angesehen (D'Alessandro et al., 1995). Der Ausstrich ist nach wie vor ein anerkanntes Verfahren zur Bestimmung der Parasitendichte, da er unter einfachsten Bedingungen durchführbar ist.

In unserer Studie hatten 98% der Kinder beider Genotypen mindestens einmal mikroskopisch nachweisbar Parasiten. In 43% aller Ausstrichpräparate ließen sich in beiden Gruppen Parasiten nachweisen. Diese Prävalenz konnte später in einer Studie in demselben Gebiet bestätigt werden (Lenzen, 2007). Eine Parasitämie wurde in diesen Studien mikroskopisch diagnostiziert. Die Anzahl der tatsächlichen Parasitämien lag wahrscheinlich noch höher. In anderen Studien konnte gezeigt werden, dass bei mikroskopisch negativem Ergebnis mittels PCR Parasiten nachgewiesen werden können (Bottius et al., 1996; Mockenhaupt, 1999c). Bei beiden Genotypen war eine Infektion mit *P. falciparum* am häufigsten vertreten. *P. malariae* trat in beiden Gruppen deutlich seltener auf. *P. ovale* wurde jeweils nur einmal diagnostiziert. Diese Verteilung stimmt mit Ergebnissen anderer Studien überein (Migot-Nabias et al., 2006).

In der vorliegenden Studie konnte zwischen den Genotypen kein signifikanter Unterschied bezüglich der Parasitenraten festgestellt werden. Die Beobachtung, dass der  $\alpha$ -Globin-Genotyp keinen signifikanten Einfluss auf die Infektion mit Plasmodien hat, bestätigt Ergebnisse zahlreicher anderer Studien im afrikanischen (Allen et al., 1993; Mockenhaupt et al., 1999b; Mockenhaupt et al., 2004a; Wambua et al., 2006; Enevold et al., 2008) und pazifischen Raum (Fowkes et al., 2008a). In einer anderen Studie von Enevold et al. wurde hingegen, insbesondere bei Genotyp  $-\alpha/\alpha$ , seltener eine Plasmodieninfektion beobachtet

(Enevold et al., 2007).

Hinweise dafür, dass *P. malariae* oder *P. ovale*, ähnlich wie *P. vivax* im pazifischen Raum (Williams et al., 1996b; Allen et al., 1997), als natürliche Vakzine fungieren könnte, ergaben sich nicht. Auch in einer anderen Studie in Ghana konnte oben beschriebener Mechanismus für *P. ovale* oder *P. malariae* nicht nachgewiesen werden (Mockenhaupt et al., 2003).

Kritisch anzumerken ist, dass die vor Studienbeginn durchgeführte Eisensubstitution zu erhöhten Parasitenraten geführt haben könnte, wenngleich die beiden in der Studie verglichenen Genotypen gleichermaßen behandelt wurden. So wurde in Malariagebieten unter Eisensubstitution eine erhöhte Malaria-Inzidenz beobachtet. Diese Beobachtung traf insbesondere auf Kinder mit Genotyp  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$  zu, bei Genotyp  $-a/\alpha\alpha$  und insbesondere bei Genotyp  $-a/-a$  wurde dieser Effekt weniger ausgeprägt beobachtet (Murray et al., 1978; Oppenheimer et al., 1986).

Die Eisenbehandlung könnte somit als Konfounder die Ergebnisse dieser Studie beeinflusst haben. In einer anderen Studie ergaben sich Hinweise auf einen durch Mikrozytose vermittelten Schutz vor einer *P. falciparum*-Infektion (Mockenhaupt, 1999c). Diese Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass mikrozytäre Erythrozyten, wie sie bei Eisenmangelanämie und  $\alpha^+$ -Thalassämie vorliegen, einen Schutz vor einer Plasmodieninfektion bieten. Menendez et al. konnten jedoch widersprüchlich zu eben zitierten Ergebnissen keinen Effekt der Eisensubstitution nachweisen (Menendez et al., 1997).

Vafa et al. stellten fest, dass der zum Ende der Regenzeit zu beobachtende Anstieg der MOI (Multiplizität der Infektion) bei Kindern mit  $\alpha^+$ -Thalassämie fehlte (Vafa et al., 2008). Es wird vermutet, dass die thalassämischen Erythrozyten vor der Invasion bestimmter Stämme von *P. falciparum* schützen. In einer zuvor durchgeführten Studie konnte dieses Ergebnis nicht bestätigt werden (Mockenhaupt et al., 2003). In unserer Studie unterschied sich der Verlauf der wöchentlichen Parasitenpunktprevalenzen zwischen den beiden Genotypen nicht signifikant. Es ergaben sich keine Hinweise darauf, dass klimatische Faktoren das Vorhandensein von Parasiten bei den beiden Genotypen unterschiedlich beeinflussen. Bei allen klinischen Studien bleibt zu bedenken, dass die Parasitendichte durch z.B. eingesetzte Medikamente beeinflusst werden kann. In unserer Studie trifft dies vor allem auf die Therapie mit Chloroquin zu. In einer anderen Studie konnte nachgewiesen werden, dass die Parasitendichte nach einer Chloroquintherapie noch bis zu zwei Wochen reduziert sein kann (Evans et al., 2005). In der vorliegenden Studie wurde jedoch bei beiden Gruppen eine Chloroquintherapie gleich häufig eingesetzt, so dass der beeinflussende Effekt bei dem Vergleich der Parasitendichte vernachlässigt wurde.

Ein Vergleich der Parasitendichte zwischen den Genotypen zu asymptomatischen und

symptomatischen Zeitpunkten zeigt in unserer Studie ebenfalls keinen signifikanten Unterschied. Migot-Nabias et al. beobachteten bei der  $\alpha^+$ -Thalassämie zu asymptomatischen Zeitpunkten eine Tendenz zu geringeren Parasitendichten, ohne dass dieser Unterschied jedoch signifikant war (Migot-Nabias et al., 2006). Diese Tendenz stellt sich auch in unseren Ergebnissen dar und stimmt somit mit den Ergebnissen von Migot-Nabias et al. überein. Auch in zahlreichen anderen Studien konnte bisher, passend zu unseren Ergebnissen, kein signifikanter Einfluss des  $\alpha$ -Globingenotyps auf die Parasitendichte zu asymptomatischen oder symptomatischen Zeitpunkten, auch bei schwerer Malaria, nachgewiesen werden (Allen et al., 1993; Allen et al., 1997; Mockenhaupt et al., 1999c; Mockenhaupt et al., 2004b; Williams et al., 2005a; Wambua et al., 2006; Enevold et al., 2008; Fowkes et al., 2008b; Veenemans et al., 2008).

In-vitro-Studien zeigten widersprüchliche Ergebnisse zum Einfluss der  $\alpha^+$ -Thalassämie auf die Invasion und das Wachstum von *P. falciparum*. Einige In-vitro-Studien ergaben keinen Hinweis darauf, dass die Invasion oder das Parasitenwachstum durch Thalassämieerythrozyten beeinflusst wird (Yuthavong et al., 1988; Luzzi et al., 1990). Andere Studien weisen jedoch darauf hin, dass die Invasion und das Parasitenwachstum durch mikrozytäre Erythrozyten, wie bei der  $\alpha^+$ -Thalassämie, gehemmt wird. Die Membran von Thalassämieerythrozyten sei gegenüber Oxidantien besonders empfindlich, und eines dieser Oxidantien, Wasserstoffperoxid, würde durch Plasmodien produziert. Die durch die Oxidantien geschädigte Zellmembran würde für Kaliumionen durchlässig. Dieser Vorgang sei u.a. für das Absterben der Plasmodien verantwortlich. In vitro konnte gezeigt werden, dass die Plasmodien in Thalassämieerythrozyten überleben, wenn die Kaliumkonzentration im Kulturmedium erhöht wird (Friedmann, 1979; Friedmann und Traeger, 1981; Marti, 1984). In einer anderen Studie konnte durch experimentell erzeugten oxidativen Stress ein vermindertes Parasitenwachstum beobachtet werden. Diese Beobachtung war bei thalassämischen Erythrozyten ausgeprägter als bei normalen Erythrozyten (Senok et al., 1997b). Hiermit übereinstimmend konnte eine erhöhte Sensibilität gegenüber oxidativen Stress bei thalassämischen als auch Eisen-defizienten Erythrozyten nachgewiesen werden (Shinar und Rachmilewitz, 1990). Ein reduziertes intraerythrozytäres Parasitenwachstum wird auch durch andere Studien bestätigt (Pattanapanyasat et al., 1999). Klinisch konnte diesen Beobachtungen jedoch noch keine Relevanz zugeordnet werden.

### 4.3 Hämatokrit und Anämie

In vorangegangenen Studien wurde überwiegend der Hämoglobin-Wert als Parameter herangezogen (Oppenheimer et al., 1987; Allen et al., 1993; Allen et al., 1997; Mockenhaupt, 1999a; Mockenhaupt et al., 1999c, Veenemans et al., 2008). Da der Hämatokrit-Wert gut mit dem Hämoglobin-Wert korreliert, wurde in unserer Studie aus praktischen Gründen der Hämatokrit-Wert und nicht der Hämoglobin-Wert bestimmt. Die Bestimmung des Hämatokrit-Wertes ist im Feld unkomplizierter als die des Hämoglobin-Wertes, daher kann es auch von diagnostischer Bedeutung sein, einen Zusammenhang zwischen der Höhe des Hämatokrits und einer Plasmodieninfektion oder einer Malariaerkrankung aufzudecken. Es ist bekannt, dass der Genotyp  $-a/\alpha$  vor der Entwicklung einer schweren Anämie schützt (Mockenhaupt et al., 2004b, May et al., 2007). Die pathogenetischen Mechanismen der Anämieentstehung und das Schutzprinzip durch  $\alpha^+$ -Thalassämie sind bisher jedoch nicht vollständig geklärt. Bei der Aufklärung der Pathogenese könnte auch der Einfluss des Genotyp  $-a/\alpha$  auf die Entwicklung des Hämatokrits und auf die Häufigkeit einer Anämie bei unkomplizierter Malaria von Bedeutung sein. In der vorliegenden Studie wurde zunächst geprüft, ob sich die medianen Hämatokrit-Werte zwischen den Genotypen unterscheiden. Desweiteren wurden die 0,25-Quantilen verglichen, um einen Hinweis darauf zu erhalten, ob unter z.B. einer Plasmodieninfektion oder einer Malaria-Episode der Hämatokrit-Wert bei Genotyp  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$  niedriger ist als bei Genotyp  $-a/\alpha$ . Da sich die Parasitenraten und die Malariaraten zwischen den Genotypen nicht signifikant unterscheiden, ist der direkte Vergleich der Hämatokrit-Werte möglich. In einer Studie von Mockenhaupt konnte bezüglich der Hämatokrit-Werte kein Unterschied zwischen den Genotypen festgestellt werden (Mockenhaupt, 1999a). Diese Beobachtung deckt sich mit früheren Ergebnissen (Allen et al., 1993). Auch in unserer Studie konnte im Median und bezüglich der 0,25-Quantilen, als Ausdruck der Häufigkeit niedriger Hämatokrit-Werte, kein signifikanter Unterschied zwischen den Untersuchungsgruppen nachgewiesen werden. Bezüglich der Hämoglobin-Werte ergaben sich widersprüchliche Aussagen. In der Studie von Mockenhaupt lagen bei nicht mit Plasmodien Infizierten die mittleren Hämoglobin-Werte bei Genotyp  $-a/-a$  um 10% und bei Genotyp  $-a/\alpha$  um 3,7% niedriger als bei Probanden mit Genotyp  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$  (Mockenhaupt, 1999a). Außerdem konnten Mockenhaupt et al. in Afrika nachweisen, dass ein Abfall des Hämoglobins unter einer Plasmodieninfektion bei Genotyp  $-a/\alpha$  abgeschwächt und bei Genotyp  $-a/-a$  quasi aufgehoben ist (Mockenhaupt et al., 1999c). Oppenheimer et al. sahen insbesondere bei sehr jungen Kindern mit  $\alpha^+$ -Thalassämie (sechs Monate) einen geringeren Hämoglobin-Abfall während einer Malaria-Episode, dieser Effekt

war sowohl bei Genotyp  $-a/aa$ , stärker noch bei Genotyp  $-a/-a$  zu beobachten (Oppenheimer et al., 1987). Auch Veenemans et al. stellten bei einer milden Malaria einen Schutz vor einem Hämoglobin-Abfall bei Genotyp  $-a/aa$  und Genotyp  $-a/-a$  fest (Veenemans et al., 2008). Bei Allen et al. ergaben sich jedoch keine Unterschiede zwischen den Hämoglobin-Werten innerhalb der Genotypen (Allen et al., 1997).

Fowkes et al. konnten bei allen Genotypen während einer Malaria signifikant niedrigere Erythrozytenzahlen nachweisen als zu Nicht-Malaria-Zeitpunkten (Fowkes et al., 2008b). Kitua et al. waren der Ansicht, dass der Abfall der Hämoglobin-Werte unter einer Plasmodieninfektion bei Kindern am wahrscheinlichsten durch die direkte Zerstörung infizierter Erythrozyten hervorgerufen wird (Kitua et al., 1997). Demzufolge hätte man in unserer Studie einen Abfall des Hämatokrit-Wertes erwarten können. Diese Vermutung hat sich aber nicht bestätigt, so dass wahrscheinlich bei der Entstehung einer Anämie zu diesem Zeitpunkt andere Faktoren als die direkte Zerstörung infizierter Erythrozyten eine größere Rolle spielen.

Während einer Malaria-Episode kann durch eine akute Hämolyse schnell eine schwere Anämie ausgelöst werden (Ekvall et al., 2001; Ekvall, 2003), diese kann aber auch das kumulative Ergebnis geringerer Hämoglobin-Abfälle während wiederholter Malaria-Episoden sein. Dass sich eine schwere Malaria-Anämie auch graduell entwickeln kann, geht aus Studien hervor, in denen eine schwere Anämie mit nur milden Symptomen, keiner Fieberanamnese und relativ geringen Parasitendichten auftritt (Biemba et al., 2000; Koram et al., 2000; Mockenhaupt et al., 2004b; Ong`chega et al., 2006). In unserer Studie wurde geprüft, ob der Genotyp  $-a/aa$  vor einem akuten, plötzlichen Hämatokrit-Verlust schützt, der im weiteren Verlauf Ursache einer schweren Anämie sein könnte. Hierfür wurde bei beiden Genotypen die 0,75-Quantile des maximalen Hämatokrit-Verlustes pro Tag errechnet. Es konnte jedoch kein Unterschied zwischen den Genotypen festgestellt werden. Dieses Ergebnis bestätigt eher die Annahme, dass die  $\alpha^+$ -Thalassämie vor einer graduellen Anämieentwicklung schützt. Hierdurch wird weiterhin die Theorie unterstützt, dass durch die kürzere Lebenszeit der thalassämischen Erythrozyten und den dadurch schnelleren „Turnover“ der Erythrozyten, eine konstitutive schnellere Erythropoese resultiert und dadurch leichte Anämien häufiger ausgeglichen und schwere Anämien abgeschwächt werden könnten (Weatherall und Clegg, 1981).

Desweiteren wurden in der vorliegenden Studie die 0,75-Quantilen des maximalen Hämatokrit-Anstiegs pro Tag zwischen Genotyp  $aa/aa$  und Genotyp  $-a/aa$  verglichen, um einen Hinweis darauf zu bekommen, ob einer der beiden Genotypen einen Hämatokrit-Verlust schneller wieder kompensiert, bevor sich eine Anämie manifestieren kann. Diesbezüglich

konnte jedoch kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Ähnliche Studien, die den maximalen Hämatokrit-Verlust oder -Anstieg pro Zeiteinheit untersuchen, liegen aktuell nicht vor. Solche Studien sollten in einem größeren Umfang wiederholt werden, hierbei wäre es außerdem sinnvoll, den maximalen Hämoglobin-Verlust oder -Anstieg zwischen den Genotypen zu vergleichen, da die Ergebnisse möglicherweise anders als für die Hämatokrit-Werte ausfallen würden.

In einer früheren Arbeit wurde eine Anämie sowohl bei Genotyp  $-a/\alpha\alpha$  und noch häufiger bei Genotyp  $-a/-\alpha$  diagnostiziert (Mockenhaupt et al., 1999b). In unserer Studie konnte kein signifikanter Unterschied bezüglich einer mindestens einmaligen Anämie im Studienzeitraum, der Anzahl der Anämie-Ereignisse in der Gesamtgruppe bzw. der Anzahl der pro Kind erhobenen Anämie-Ereignisse festgestellt werden. Die Diagnose einer Anämie wurde bei Mockenhaupt jedoch über den Hämoglobin-Wert, in unserer Untersuchung über den Hämatokrit-Wert definiert. Entsprechend unserer Ergebnisse wurde in neueren Studien kein Einfluss von Genotyp  $-a/\alpha\alpha$  auf die Prävalenz einer Anämie durch einen Parasitenbefall oder einer unkomplizierten Malaria (Enevold et al., 2007) nachgewiesen.

#### **4.4 Milzvolumen**

Die Vermessung der Milz zur Bestimmung des Milzvolumens wurde in unserer Studie per Sonographie durchgeführt. In autoptischen Studien konnte nachgewiesen werden, dass diese Bestimmung der Milzgröße die tatsächliche Milzausdehnung gut widerspiegelt (Loftus et al., 1999). Die Messungen wurden ausschließlich von dem Kinderarzt durchgeführt, der dem Untersuchungsteam angehörte, so dass Schwankungen durch individuelle Messungenauigkeiten minimiert werden konnten.

Im Verlauf von Malariainfektionen kommt es zu Milzvergrößerungen, die auch diagnostisch und epidemiologisch ausgewertet werden können (Hackett, 1944; Bruce-Chwatt, 1980). Die Milzvergrößerung betrifft sowohl die rote Pulpa, vermutlich durch phagozytierte Erythrozyten bedingt (Russel et al., 1963; Connor et al., 1976; Schumacher, 1979; Weiss et al., 1986; Pongponratn, 1987; Bowdler, 1990), als auch die weiße Pulpa, durch Immunmechanismen bedingt (Ho et al., 1990; Yoneto et al., 2001). Die Fähigkeit der Milz, Erythrozyten aus der Blutbahn zu entfernen, erscheint bei Malaria erhöht (Lee et al., 1982) und kann somit eine Anämie zur Folge haben. Dies stimmt mit Ergebnissen von Mockenhaupt überein, hier wurde bei Studienteilnehmern mit einer Splenomegalie auch ein Hämoglobinverlust registriert (Mockenhaupt, 1999a). Während einer Malariainfektion ist die Milz vergrößert. Die Größenzunahme der Milz zählt neben Fieber und Anämie zu den drei Hauptsymptomen einer

Malariainfektion (Mashaal, 1986). Bei Kindern mit Malariaparasiten im Blut liegt sonographisch zu ca. 90% eine Splenomegalie vor (Ohmae et al., 1991; Richter et al., 2004). Bei Persistenz des Erregers oder bei intermittierenden Infektionen, wie es in Malariaendemiegebieten, also auch in unserem Studiengebiet der Fall ist, kann die Splenomegalie persistieren (Greenwood et al., 1987). Der Vergleich der relativen Milzvergrößerung in Bezug auf das Sollvolumen zwischen den Genotypen könnte weitere Hinweise erbringen, ob die Erythrozytenelimination, zum Beispiel auch nicht-infizierter Erythrozyten, bei Genotyp  $-a/aa$  weniger ausgeprägt ist als bei Genotyp  $aa/aa$  und hierüber vor der Entwicklung einer schweren Anämie schützen könnte. Der Genotyp  $-a/aa$  weist normalerweise keine Splenomegalie auf (Allen et al., 1993; Allen et al., 1997). In unserer Studie konnte zwischen den Genotypen kein signifikanter Unterschied zwischen den sonographisch ermittelten relativen Milzvergrößerungen in Bezug zum Sollvolumen festgestellt werden. Da sich in der vorliegenden Studie auch die Malaria- und Parasitenraten nicht signifikant zwischen den Genotypen unterscheiden (s. 4.2 und 4.5), lässt sich aus unseren Ergebnissen kein unterschiedlicher Einfluss einer unkomplizierten Malaria oder einer Plasmodieninfektion auf die Entwicklung einer Splenomegalie, z.B. im Sinne einer erhöhten Erythrozytenelimination, ableiten. Passend hierzu wurde, wie bereits oben genauer diskutiert, kein signifikanter Unterschied zwischen den Hämatokritwerten der beiden Genotypen beobachtet.

#### **4.5 Malaria tropica**

Die Diagnose einer Malaria ist insbesondere bei einem leichten Verlauf in den Endemiegebieten nicht immer eindeutig. Die in dieser Arbeit verwendete Definition der WHO - Körpertemperatur von  $> 37,7$  °C plus Plasmodiennachweis - ist sehr weit gefasst und zeigt eine hohe Sensitivität bei jedoch geringer Spezifität. Über die Hälfte der Kinder in Endemiegebieten können eine Parasitämie aufweisen und gleichzeitig Fieber auf Grund anderer Ursachen haben. In hyperendemischen Malariagebieten kann nachgewiesenes Fieber auch bei gleichzeitigem Plasmodiennachweis andere häufige Infektionskrankheiten als Ursache haben (O'Dempsey et al., 1993). Die Malaria ist daher in Endemiegebieten bei Einheimischen eher als Ausschlussdiagnose zu werten (Trape et al., 1985). Andererseits können auch mikroskopisch inapparente Parasitämien Ursache einer Malariaepisode sein. Trotz dieser Einschränkungen ist diese Diagnose per WHO-Definition weiterhin gültig und unter einfachen Bedingungen durchführbar (WHO, 2000; WHO, 2010). Zum Zeitpunkt der Untersuchung der Kinder kannte der Arzt in der vorliegenden Studie den

Parasitenbefund nicht, so dass die von ihm gestellte Diagnose und durchgeführte Therapie nur nach klinischen Gesichtspunkten festgelegt wurden. Dies kann zu einer Über- oder Unterdiagnostizierung mit folgender Über- oder Unterbehandlung führen. Eine Überdiagnostizierung ist hierbei wahrscheinlicher (Rooth und Bjorkmann, 1992). In unserer Studie setzte der Kinderarzt in beiden Studiengruppen gleich häufig eine malariaspezifische Therapie mit Chloroquin ein.

Bei beiden Genotypen waren 13% der positiven Ausstriche für *P. falciparum* mit Fieber und damit per definitionem mit einer klinischen Malaria tropica assoziiert. Dies macht deutlich, dass bei beiden Genotypen die große Mehrheit der Plasmodieninfektionen asymptomatisch verlief. Es existieren zahlreiche Studien im asiatischen und afrikanischen Raum bezüglich des Einflusses der

$\alpha^+$ -Thalassämie auf die Malariaerkrankung. Hierbei gilt es grundsätzlich zwischen dem Einfluss von Genotyp  $-a/a\alpha$  und von Genotyp  $-a/-a$  auf eine komplizierte beziehungsweise unkomplizierte Malaria zu unterscheiden. Die meisten Studien weisen einen Schutz der  $\alpha^+$ -Thalassämie vor der Entwicklung einer schweren Malaria nach. Insbesondere eine schwere Anämie wird bei der  $\alpha^+$ -Thalassämie seltener beobachtet. Hierbei scheint der Genotyp  $-a/-a$  einen größeren Schutz als der Genotyp  $-a/a\alpha$  zu besitzen (Allen et al., 1997; Flint et al., 1998; May et al., 1999; Wambua et al., 2006; May et al., 2007). Es wird angenommen, dass die genetische „Fitness“ von Genotyp  $-a/a\alpha$  zwischen der von Genotyp  $-a/-a$  und der von Genotyp  $a\alpha/a\alpha$  liegt (Allen et al., 1997). Es gibt jedoch auch Ergebnisse, die Genotyp  $-a/a\alpha$  einen größeren Schutz vor der Entwicklung einer schweren Malaria mit schwerer Anämie zeigen (Mockenhaupt et al., 2004b). Hat sich jedoch bereits eine schwere Malaria entwickelt, scheint die  $\alpha^+$ -Thalassämie keinen Einfluss mehr auf den weiteren Verlauf der Krankheit zu nehmen. Es gibt zwischen den Genotypen keinen Unterschied bezüglich der Mortalitätsrate der an schwerer Malaria erkrankten Kinder (Allen et al., 1997; Mockenhaupt et al., 2004b). Über den Einfluss der  $\alpha^+$ -Thalassämie auf die Manifestation einer unkomplizierten Malaria gibt es bisher wenige Studien. Ein Schutz vor einer leichten Malaria konnte bisher vor allem für Genotyp  $-a/-a$  nachgewiesen werden. In einer Studie von Allen et al. war für Genotyp  $-a/-a$  das Risiko, an einer unkomplizierten Malaria zu erkranken, um 43% reduziert (Allen et al., 1997). Für Genotyp  $-a/a\alpha$  konnte dies nicht nachgewiesen werden. In einer kleinen Kohortenstudie in Gambia konnte ebenfalls kein Einfluss von Genotyp  $-a/a\alpha$  auf klinische Malariaepisoden beobachtet werden (Allen et al., 1993). Passend zu diesen Ergebnissen konnten Willams et al. für Genotyp  $-a/-a$  einen Schutz vor einer unkomplizierten und einer schweren Malaria nachweisen, für Genotyp  $-a/a\alpha$  konnte jedoch nur ein Schutz vor einer schweren Malaria belegt werden (Willams et al., 2005a). Widersprüchlich hierzu war jedoch

in einer aktuelleren Studie sowohl Genotyp  $-a/aa$  als auch Genotyp  $-a/-a$ , mit einem signifikant geringeren Risiko assoziiert, an einer unkomplizierten Malaria zu erkranken (Enevold et al., 2008). Dies traf insbesondere auf Kinder zu, die älter als fünf Jahre alt waren. Auch in Studien in Kenia (Wambua et al., 2006) und in Nepal (Modiano et al., 1991) zeigte sich bei Trägern einer  $\alpha^+$ -Thalassämie ein reduziertes Auftreten einer unkomplizierten Malaria, ohne jedoch Signifikanz zu erreichen. In unserer Studie konnte in Übereinstimmung mit den früher durchgeführten Studien zwischen Genotyp  $aa/aa$  und Genotyp  $-a/aa$  kein Unterschied bezüglich der Häufigkeit einer unkomplizierten Malaria abgeleitet werden.

#### **4.6 Nicht malariaassoziierte, fieberhafte und nicht fieberhafte Erkrankungen**

In unserer Studie wurde die Diagnose der nicht malariaassoziierten Erkrankungen allgemein gefasst und nur in fieberhafte und nicht fieberhafte Erkrankungen eingeteilt. Eine weitere Differenzierung erfolgte nicht, da diesbezüglich die Fallzahlen zu klein waren.

Bei beiden Genotypen waren Fieberepisoden in knapp über 50% der Fälle nicht mit Plasmodium-Parasiten assoziiert und damit nicht mit der Diagnose Malaria vereinbar. Fieberhafte Erkrankungen haben also neben der Malaria eine erhebliche Inzidenz und damit eine gesundheitspolitische Bedeutung. Aus wissenschaftlicher Sicht wäre es interessant, den Einfluss der  $\alpha^+$ -Thalassämie auf den Verlauf und die Schwere anderer fieberhafter Erkrankungen zu untersuchen.

In einer Studie in Papua Neuguinea wurde beobachtet, dass Krankenhausaufenthalte wegen anderer Erkrankungen als Malaria bei Genotyp  $-a/-a$  um 64% und bei Genotypen  $-a/aa$  um 37% reduziert waren (Allen et al., 1997). Die häufigsten Diagnosen waren Gastroenteritiden, respiratorische Infekte und Meningitiden. Pasvol kam zu dem Ergebnis, dass sowohl Kinder mit Genotyp  $-a/aa$ , als auch Kinder mit Genotyp  $-a/-a$  signifikant seltener an tiefen Atemwegsinfekten erkrankten (Pasvol, 2006). Wambua et al. konnten dieses Ergebnis bestätigen (Wambua et al., 2006). Für andere (nicht näher klassifizierte) Erkrankungen konnte in dieser Studie kein Unterschied zwischen den Genotypen festgestellt werden. In einer Studie von Veenemans et al. war Genotyp  $-a/aa$  mit niedrigeren CRP-Werten und insgesamt eine niedrigerer Prävalenz von Entzündungszeichen assoziiert (Veenemans et al., 2008).

Die Punktprävalenzen fieberhafter Erkrankungen unterschieden sich in unserer Studie über den gesamten Studienzeitraum nicht. Das bedeutet, dass es zu keinem Zeitpunkt Hinweise darauf gab, dass einer der beiden Genotypen anfälliger für bestimmte Erkrankungen gewesen wäre. In unserer Studie wurden die Kinder neben einer Malaria insbesondere wegen

Atemwegsinfekten, Durchfallerkrankungen, Otitiden und Hautabszessen behandelt.

Widersprüchlich zu den oben genannten Ergebnissen unterschied sich die Erkrankungsrate bezüglich malariaunabhängiger fieberhafter Erkrankungen nicht signifikant zwischen den Genotypen. Auch die aurikulär gemessenen Temperaturen unterschieden sich zwischen den Genotypen zu fieberfreien und fieberhaften Zeitpunkten nicht signifikant. Im Gegensatz zu den oben erwähnten Studien handelte es sich in unserer Studie um unkomplizierte fieberhafte Erkrankungen, während es sich in den oben erwähnten Studien um fieberhafte Erkrankungen handelte, die im Krankenhaus behandelt werden mussten. Möglicherweise schützt auch hier die  $\alpha^+$ -Thalassämie, ähnlich wie bei der Malaria, nicht vor einer Fiebererkrankung an sich, sondern vor einem schweren Krankheitsverlauf bei Fieber. Auch hier könnte die Entwicklung einer schweren Anämie eine Rolle spielen. Bei Neugeborenen wurde in der Studie von Wambua et al. eine Krankenhausaufnahme auf Grund einer schweren Anämie bei Genotyp  $- \alpha/\alpha$  signifikant seltener beobachtet als bei Genotyp  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ . Ob die Anämie von Fieber begleitet war oder nicht, geht aus der Studie nicht hervor (Wambua et al., 2006).

Andere Studien, die den Einfluss einer  $\alpha^+$ -Thalassämie auf eine unkomplizierte fieberhafte Erkrankung untersuchen, liegen zum jetzigen Zeitpunkt nicht vor.

Ergänzend zu erwähnen ist, dass in unserer Studie fünf Kinder aus der Gruppe der Wildtypen wegen nichtfieberhafter Erkrankungen behandelt wurden, bei drei Kindern bestand zeitgleich eine Anämie. Wegen der geringen Fallzahl lassen sich daraus jedoch keine Schlüsse ziehen. Um genauere Zusammenhänge zwischen anderen Erkrankungen als der Malaria und der  $\alpha^+$ -Thalassämie zu klären, müssten weitere Studien erfolgen. Unklar ist auch, über welchen Mechanismus ein solcher Schutz entstehen könnte. In Endemiegebieten ist es denkbar, dass Malariainfektionen bestimmte Co-Infektionen begünstigen könnten und somit würden Studien über genetische Varianten, die Schutz vor Malaria vermitteln, auch einen relativen Schutz vor der Co-Infektion anzeigen. Vielleicht ist der schwächende und immunsupprimierende Effekt durch eine chronische Plasmodieninfektion in holo- und hyperendemischen Gebieten bei einer  $\alpha^+$ -Thalassämie nicht so stark ausgeprägt (Williamson und Greenwood, 1978). Oder aber die erworbene Immunität gegen Malaria hängt mit nicht-spezifischen immunologischen Komponenten zusammen, welche auch gegen andere Erkrankungen schützen (Allen et al., 1997).

#### **4.7 Zusammenfassende Diskussion**

In unserer Studie konnte kein protektiver Schutz der heterozygoten  $\alpha^+$ -Thalassämie Variante -  $\alpha^{3.7}$  (Genotyp  $- \alpha/\alpha$ ) auf das Auftreten oder den Verlauf einer unkomplizierten Malaria-

Erkrankung oder auf das Auftreten einer unkomplizierten fieberhaften Erkrankung nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse können einerseits darin begründet liegen, dass tatsächlich kein protektiver Effekt vorhanden ist, andererseits könnte ein schwacher Schutz in dieser kleinen Studiengruppe nicht nachweisbar gewesen sein, d.h. die „odds ratio“ könnte für die Studiengruppe zu klein sein. Eine weitere Erklärung für den fehlenden Nachweis einer Assoziation könnte ein rezessives Vererbungsmodell für solche Phänotypen sein, die tatsächlich von  $\alpha^+$ -Thalassämie-Varianten beeinflusst werden. Individuen mit homozygoten  $\alpha^+$ -Thalassämie-Genotypen ( $-\alpha/-\alpha$ ) wurden in dieser Studie nicht geprüft.

## 5. Zusammenfassung

Aufgrund der räumlichen Übereinstimmung von Gebieten mit endemischer Malaria und dem Vorkommen von Formen der  $\alpha^+$ -Thalassämie vermutet man, dass diese genetischen Varianten einen Schutz vor klinischer Malaria vermitteln und so in den betroffenen Populationen im Sinne einer balancierten Selektion hohe Allelfrequenzen erreichen konnten. In der vorliegenden longitudinalen Studie über 15 Wochen wurden 60 Kinder mit 3 Hämoglobin  $\alpha$ -Gen-Anlagen (HBA), Genotyp  $-\alpha/\alpha\alpha$ , mit 52 Kindern mit dem Wildtyp, 4 HBA-Anlagen, Genotyp  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ , bezüglich abgeleiteter Variablen für Plasmodieninfektion, Hämatokrit, Milzvergrößerung, Körpertemperatur, unkomplizierter klinischer Malaria, und anderer fieberhafter Erkrankungen verglichen. Diese Pilotstudie verwendet erstmalig ein Design, bei dem Kinder, die einen heterozygoten Genotyp der  $\alpha^+$ -Thalassämie aufweisen, ihren Geschwisterkindern mit Wildtyp gegenübergestellt werden. Dies macht das Auftreten von falsch positiven Assoziationen, verursacht durch Unterschiede zwischen Fällen und Kontrollen hinsichtlich des genetischen Hintergrundes oder hinsichtlich der Unterschiede bei der Exposition mit dem Erreger unwahrscheinlich. Zusammenfassend ließ sich kein Einfluss des heterozygoten  $\alpha^+$ -Thalassämie Genotyps auf Parasitenlast mit *P. falciparum*, auf Zeichen oder Symptome unkomplizierter, klinischer Malaria oder das Auftreten anderer fieberhafter Erkrankungen finden ( $P$ -Werte  $> 0,05$ ). Dass kein Einfluss nachgewiesen werden konnte, liegt möglicherweise daran, dass der Schutz so schwach ausgeprägt ist, dass dieser sich mit der relativ kleinen Studiengruppe nicht darstellen ließ. Um dies weiter zu verifizieren, müssten Studien in grösserem Umfang durchgeführt werden.

## 6. Abkürzungsverzeichnis

$\alpha$	alpha
$-\alpha/-\alpha$	Genotyp homozygote $\alpha^+$ -Thalassämie
$-\alpha/\alpha\alpha$	Genotyp heterozygote $\alpha^+$ -Thalassämie
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	normaler $\alpha$ -Globin-Genostatus
$\beta$	beta
$\gamma$	gamma
$\delta$	delta
$\zeta$	zeta
$\mu\text{l}$	Microliter
%	Prozent
<	kleiner
>	größer
$\Delta$	Differenz
©	Copyright
®	eingetragenes Warenzeichen
°C	Grad Celsius
Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
d	Tag
dl	Deziliter
DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl.: desoxyribonucleic acid)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
f	Genfrequenz
g	Gramm
G	Erdanziehung
ggf.	gegebenenfalls
Hb	Hämoglobin
het	heterozygot
Hkt	Hämatokrit
I	Inzidenz
kb	Kilobasenpaare

kg	Kilogramm
m	männlich
mg	Milligramm
ml	Milliliter
Max.	Maximum
Min.	Minimum
m	männlich
n	Anzahl
NO	Stickoxid
OR	Odds Ratio
<i>P.</i>	<i>Plasmodium</i>
<i>P</i>	Ergebnis eines Signifikanztests
<i>P.f.</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>
<i>P.m.</i>	<i>Plasmodium malariae</i>
<i>P.o.</i>	<i>Plasmodium ovale</i>
Tab.	Tabelle
TNF	Tumornekrosefaktor
u.a.	unter anderem
w	weiblich
WHO	World Health Organisation
z.B.	zum Beispiel

## 7. Literaturverzeichnis

**Adams S, Brown H, Turner G (2002)** Breaking down the blood-brain barrier: signaling a path to cerebral malaria? *Trends Parasitol.* 18: 360-366.

**Adekile AD, Liu JC, Sulzer AJ Huisman TH (1993)** Frequency of the  $\alpha$ -thalassemia-2 gene among nigerian SS patients and its influence on malaria antibody titers. *Hemoglobin* 17: 73-79.

**Aidoo M, Terlouw DJ, Kolczak MS, McElroy PD, ter Kuile FO, Kariuki S, Nahlen BL, Lal AA, Udhayakumar V (2002)** Protective effects of the sickle cell gene against malaria morbidity and mortality. *Lancet* 359 (9314): 1311-1312.

**Allen SJ, Rowe P, Allsopp CE, Riley EM, Jakobsen PH, Hill AV, Greenwood BM (1993)** A prospective study of the influence of  $\alpha$ -thalassaemia on morbidity from malaria and immune responses to defined *Plasmodium falciparum* antigens in Gambian children. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 87(3): 282-285.

**Allen SJ, O`Donnell A, Alexander ND, Alpers MP, Peto TE, Clegg JB, Weatherall DJ (1997)**  $\alpha^+$ -Thalassaemia protects children against disease caused by other infections as well as malaria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(26): 14736-14741.

**Allison AC (1964)** Polymorphism and natural selection in human populations. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 29: 137-149.

**Angus BJ, Chotivanich K, Udomsangpetch R, White NJ (1997)** In vivo removal of malaria parasites from red blood cells without their destruction in acute *falciparum* malaria. *Blood* 90(5): 2037-2040.

**Aravind L, Iyer LM, Wellems TE, Miller LH (2003)** Plasmodium biology: genomic gleanings. *Cell* 115: 771-785.

**Bayoumi RA (1987)** The sickle-cell trait modifies the intensity and specificity of the immune response against *P. falciparum* malaria and leads to acquired protective immunity. Med Hypotheses 22: 287-298.

**Bears PF (1997)** Anaemia in malaria control: a practical approach. Ann Trop Med Parasitol. 91: 713-718.

**Berkley J, Mwarumba S, Bramham K, Lowe B, Marsh K (1999)** Bacteraemia complicating severe malaria in children. Trans R Soc Trop Med Hyg. 93 (3): 283-286.

**Biamba G, Dolmans D, Thuma PE, Weiss G, Gordeuk VR (2000)** Severe anaemia in Zambian children with *Plasmodium falciparum* malaria. Trop Med Int Health. 5(1): 9-16.

**Bienzle U, Ayeni O, Lucas AO, Luzzatto L (1972)** Glucose-6-phosphate dehydrogenase and malaria. Greater resistance of females heterozygous for enzyme deficiency and of males with non-deficient variant. Lancet 1 (7742): 107-110.

**Bienzle U, Harms-Zwingenberger G, Meyer CG (1996)** Anämie und Hämolyse in: Knobloch J (Hrsg): Tropen- und Reisemedizin, Gustav Fischer Verlag, Jena, 402-421.

**Bottius E, Guanzirolli A, Trape JF, Rogier C, Konate L, Druilhe P (1996)** Malaria: even more chronic in nature than previously thought; evidence for subpatent parasitaemia detectable by the polymerase chain reaction. Trans R Soc Trop Med Hyg. 90 (1): 15-19.

**Bowden DK, Hill AVS, Higgs DR, Weatherall DJ, Clegg JB (1985)** The relative roles of genetic factors, dietary, deficiency and infection in anaemia in Vanuatu, Southwest Pacific. Lancet II: 1025.

**Bowdler AJ (1990)** The structure and functions of the spleen, The relationship of the spleen to infection. In: Bowdler AJ (ed) The spleen 1<sup>st</sup> edn., Chapman and Hall Ltd., London, pp. 1-134, 261-281.

**Brabin BJ (1990)** An analysis of malaria parasite rates in infants: 40 years after Ian Mc Gregor. Trop Dis Bull. 87 R: 1-16.

**Bradley DJ (1990)** Malaria. in: Warrell DA (Hrsg.): Infektionskrankheiten. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 587-620.

**Browne ENL, Frimpong E, Sievertsen J, Hagen J, Hamelmann C, Dietz K, Horstmann RD, Burchard GD (2000)** Malariometric update for the rainforest and savannah of Ashanti region, Ghana. *Ann Trop Med Parasitol.* 94(1): 15-22.

**Bruce-Chwatt LJ (1965)** Paleogenesis and paleo-epidemiology of primate malaria. *Bulletin of the World Health Organization* 32: 363-387.

**Bruce-Chwatt LJ (1980)** Essential malariology. Butterworth-Heinemann Medical Books Ltd. London.

**Bryceson A, Fakunle YM, Fleming AF, Crane G, Hutt MSR, DeCock KM, Greenwood BM, Marsden P, Rees P (1983)** Malaria and splenomegaly. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 77: 879.

**Buckle V, Higgs Dr, Wilkie AOM, Super M, Weatherall DJ (1988)** Localization of human  $\alpha$ -globine to 16p13.3-pter. *J Med Gen.* 25: 847-849.

**Büning H, Trenkler G (1994)** Nichtparametrische statistische Methoden. 2. Aufl. de Gruyter, Berlin.

**Bull PC, Lowe BS, Kortok M, Molyneux CS, Newbold CI, Marsh K (1998)** Parasite antigens to the infected red cell surface are targets for naturally acquired immunity to malaria. *Nat Med.* 4(3): 358-360.

**Burchard GD, Browne EN, Sievertsen J, May J, Meyer CG (2001)** Spleen size determined by ultrasound in patients with sickle cell trait, HbAC trait and glucose-6-phosphate-dehydrogenase deficiency in a malaria hyperendemic area (Ashanti Region, Ghana). *Acta Trop.* 80(2): 103-109.

**Butthep P, Wanram S, Pattanapanyasat K, Vattanaviboon P, Fucharoen S, Wilairat P. (2006)** Cytoadherence between endothelial cells and *P. falciparum* infected and noninfected normal and thalassemic red blood cells. *Cytometry B Clin Cytom.* 70(6): 432-442.

**Camacho LH, Gordeuk VR, Wilairatana P, Pootrakul P, Brittenham GM, Looareesuwan S (1998)** The course of anaemia after the treatment of acute, *falciparum* malaria. *Ann Trop Med Parasitol.* 92(5): 525-537.

**Capaccioli L, Stecco A, Vanzi E, Brizzi E (2000)** Ultrasonographic study on the growth and dimensions of healthy children and adults organs. *Ital J Anat Embryol.* 105(1):1-50.

**Carlson J, Helmby H, Hill AV, Brewster D, Greenwood BM, Wahlgren M (1990)** Human cerebral malaria: association with erythrocyte rosetting and lack of anti-rosetting antibodies. *Lancet.* 336 (8729): 1457-1460.

**Carlson J, Nash GB, Gabutti V, al-Yaman F, Wahlgren M (1994)** Natural protection against severe *Plasmodium falciparum* malaria due to impaired rosette formation. *Blood* 84: 3909–3914.

**Clegg JB, Weatherall DJ (1999)** Thalassemia and malaria: New insights in an old problem. *Proc Assoc Am Physicians.* 111 (4): 278-282.

**Connor DH, Neafi RC, Hockmeyer WT (1976)** Malaria. In: Binford CH, Connor DH. (eds) *Pathology of tropical and extraordinary diseases.* Armed Forces Institute of Pathology, Washington D.C., Vol. I pp. 273-283.

**Craig A, Scherf A (2001)** Molecules on the surface of the *Plasmodium falciparum* infected erythrocyte and their role in malaria pathogenesis and immune evasion. *Mol Biochem Parasitol.* 115(2): 129-143.

**Cramer JP, Mockenhaupt FP, Ehrhardt S, et al. (2004)** iNOS promoter variants and severe malaria in Ghanaian children. *Trop Med Int Health* 2004; 9 (10): 1074-1080.

**Crane GG (1981)** Tropical splenomegaly. Part 2: Oceania. Clin Haematol. 10: 976-982.

**D'Alessandro U, Leach A, Drakely CJ, Bennett S, Olaleye BO, Fegan GW, Jawara M, Langerock P, George MO Targett GAT, Greenwood BM. (1995)** Efficacy trial of malaria vaccine SPf66 in Gambian infants. Lancet 346: 462-467.

**Deisseroth A, Nienhuis A, Turner P, Velez R, Anderson WF, Ruddle F, Lawrence J, Greagan R, Kucherlapati R (1977)** Localization of the human  $\alpha$ -globin structural gene to chromosome 16 in somatic cell hybrids by molecular hybridization assay. Cell 12: 205-218.

**Deisseroth A, Nienhuis A, Lawrence J, Giles R, Turner P, Ruddle FH (1978)** Chromosomal localization of human  $\beta$ -globin gene on human chromosome 11 in somatic cell hybrids. Proc Natl Acad Sci USA 75: 1456-1460.

**Dietel L, Suttorp N, Zeitz M, Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL (2005)** Harrison's Innere Medizin, Deutsche Ausgabe in Zusammenarbeit mit der Charité, 16. Aufl., McGraw-Hill · ABW Wissenschaftsverlag, Berlin.

**Di Rienzo A, Novelletto A, Aliquò MC, Bianco I, Tagarelli A, Brancati C, Colombo B, Felicetti L (1986)** Molecular basis of HbH disease in Italy: geographical distribution of deletional and nondeletional  $\alpha$ -thalassaemia haplotypes. Am J Hum Genet. 39: 631-639.

**Dittrich M, Milde S, Dinkel E, Baumann W, Weitzel D (1983)** Sonographic biometry of liver and spleen size in childhood. Pediatr Radiol. 13(4): 206-211.

**Dondorp AM, Angus BJ, Chotivanich K, Silamut K, Ruangveerayuth R, Hardeman MR, Kager PA, Vreeken J, White NJ (1999)** Red blood cell deformability as a predictor of anemia in severe *falciparum* malaria. Am J Trop Med Hyg. 60(5): 733-737.

**Dong C, Chu X, Wang Y, Wang Y, Jin L, Shi T, Huang W, Li Y (2008)** Exploration of gene-gene interaction effects using entropy-based methods. Eur J Hum Genet. 16(2): 229-235.

**Dormer P, Dietrich M, Kern P, Horstmann RD (1983)** Ineffective erythropoiesis in acute human *P. falciparum* malaria. *Blut* 46(5): 279-288.

**Dunn FL (1965)** On the antiquity of malaria in the western hemisphere. *Hum Biol.* 37(4): 385-393.

**Ekvall H, Arese P, Turrini F, Ayi K, Mannu F, Premji Z, Bjorkman A (2001)** Acute haemolysis in childhood falciparum malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 95(6): 611-617.

**Ekvall H (2003)** Malaria and anaemia. *Curr Opin Hematol.* 10(2):108-114.

**Embury SH, Miller JA, Dozy AM, Kann YW, Chan V, Todd D (1980)** Two different molecular organizations account for the single alpha-globin gene of the  $\alpha$ -thalassaemia-2 genotype. *J Clin Invest* 66: 1319-1325.

**Enevold A, Alifrangis M, Sanchez JJ, Carneiro I, Roper C, Børsting C, Lusingu J, Vestergaard LS, Lemnge MM, Morling N, Riley E, Drakeley CJ (2007)** Associations between  $\alpha^+$ -thalassemia and *Plasmodium falciparum* malarial infection in northeastern Tanzania. *J Infect Dis.* 196(3): 451-459.

**Enevold A, Lusingu JP, Mmbando B, Alifrangis M, Lemnge MM, Bygbjerg IC, Theander TG, Vestergaard LS (2008)** Reduced risk of uncomplicated malaria episodes in children with  $\alpha^+$ -thalassemia in northeastern Tanzania. *Am J Trop Med Hyg.* 78(5): 714-720.

**English M, Newton CR (2002)** Malaria: pathogenicity and disease. *Chem Immunol.* 80: 50-69.

**Evans JA, May J, Tominski D, Eggelte T, Marks F, Abruquah HH, Meyer CG, Timmann C, Agbenyega T, Horstmann RD (2005)** Pre-treatment with chloroquine and parasite chloroquine resistance in Ghanaian children with severe malaria. *QJM* 98 (11): 789- 96.

**Fleming AF, Storey J, Molineaux L, Iroko EA, Attai ED (1979)** Abnormal haemoglobins in the Sudan savanna of Nigeria. I. Prevalence of haemoglobins and relationships between sickle cell trait, malaria and survival. *Ann Trop Med Parasitol.* 73: 161-172.

**Flint J, Hill AVS, Bowden DK, Oppenheimer SJ, Sill PR, Serjeantson SW, Bana-Koiri J, Bhatia K, Alpers MP, Boyce AJ, Weatherall DJ, Clegg JB (1986a)** High frequencies of  $\alpha$ -Thalassaemia are the result of natural selection by malaria. *Nature* 321: 744-750.

**Flint J, Hill AV, Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR (1986b)**  $\alpha$ -Globin genotypes in two European populations. *Br J Haematol.* 63(4): 796-797.

**Flint J, Harding RM, Boyce AJ, Clegg JP (1993)** The population genetics of the hemoglobinopathies. *Clin Haematol.* 6: 215-262.

**Flint J, Harding RM, Boyce AJ, Clegg JB (1998)** The population genetics of the haemoglobinopathies. *Baillieres Clin Haematol.* 11 (1): 1-51.

**Fodde R, Losekoot M, van den Broeck MH, Oldenburg M, Rashida N, Schreuder A, Wijnen JT, Giordano PC, Nayudu NV, Khan PM, et al. (1988)** Prevalence and molecular heterogeneity of  $\alpha$ -thalassaemia in two tribal populations from Andhra Pradesh, India. *Human Genet.* 86: 157-160.

**Fowkes FJ, Michon P, Pilling L, Ripley RM, Tavul L, Imrie HJ, Woods CM, Mgone CS, Luty AJ, Day KP (2008a)** Host erythrocyte polymorphisms and exposure to *Plasmodium falciparum* in Papua New Guinea. *Malar J.* 3;7: 1.

**Fowkes FJ, Allen SJ, Allen A, Alpers MP, Weatherall DJ, Day KP (2008b)** Increased microerythrocyte count in homozygous  $\alpha^+$ -thalassaemia contributes to protection against severe malarial anaemia. *PLoS Med.* 5(3): e56.

**Frank K, Linhart P, Bettendorf U, Christl HL (1984)** Sonographic determination of spleen size and spleen weight. *Ultraschall Med.* 5(3): 104-107.

**Francischetti IM (2008)** Does activation of the blood coagulation cascade have a role in malaria pathogenesis? *Trends Parasitol.* 24: 258-263.

**Friedmann MJ (1979)** Oxidant damage mediates variant red cell resistance to malaria. *Nature* 280: 245-249.

**Friedmann MJ, Traeger W (1981)** The biochemistry of resistance to malaria. *Scientific American* 244: 154-155.

**Friis H, Ndhlovu P, Mduluzi T, Kaondera K, Franke D, Vennervald BJ, Christensen NO, Doehring E (1996)** Ultrasonographic organometry: liver and spleen dimensions among children in Zimbabwe. *Trop Med Int Health.* 1(2): 183-190.

**Fucharoen S und Winichagoon P (1987)** Haemoglobinopathies in Southeast Asia. *Hemoglobin* 11: 65-88.

**Füllhase C (2005)** Die sonographisch bestimmte Milzgröße als integrales Maß für Malaria-Parasitämien. Medizinische Dissertation. Universität Hamburg.

**Garnham PCC (1966)** Malaria parasites and other Haemosporidiae. Blackwell. Oxford.

**Garnham PCC (1988)** Malaria parasites of man: life-cycles and morphology (excluding ultrastructure). in: Wernsdorfer WH, Sir McGregor I: *Malaria: Principles and Practice of Malariology.* Churchill Livingstone Edinburgh Vol I, 61-96.

**Garrod AE (1931)** The inborn factors in disease. An essay. Oxford University Press, Oxford.

**Goka BQ, Kwarko H, Kurtzhals JA (2001)** Complement binding to erythrocytes is associated with macrophage activation and reduced haemoglobin in *Plasmodium falciparum* malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 95: 545-549.

**Greenwood BM, Bradley AK, Greenwood AM, Byass P, Jammeh K, Marsh K, Tulloch S, Oldfield FSJ, Hayes R (1987)** Mortality and morbidity from malaria among children in a rural area of The Gambia, West Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 81: 478-486.

**Greenwood BM (1989)** The microepidemiology of malaria and its importance to malaria control. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 83: Suppl 25-29.

**Greenwood BM (1997)** The epidemiology of malaria. *Ann Trop Med Parasitol.* 91 (7): 763-769.

**Griffiths MJ, Ndungu F, Baird KL, Muller DP, Marsh K, Newton CR (2001)** Oxidative stress and erythrocyte damage in Kenyan children with severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Br J Haematol.* 113(2): 486-491.

**Hackett LW (1944)** Spleen measurement in malaria. *Journal of the national malaria society* 3: 121-131.

**Haldane JBS (1948)** The rate of mutation of human genes. *Proceedings of the Eighth International Congress of genetics and Heredity. Hereditas Suppl.* 35: 267-273.

**Haldar K, Mohandas N (2009)** Malaria, erythrocytic infection, and anemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program:* 87-93.

**Haworth J (1988)** The global distribution of malaria and the present control effort *Churchill Livingstone, Edinburgh* 2. Auflage, 1384-1386 (1988).

**He W, Neil S, Kulkarni H, Wright E, Agan BK, Marconi VC, Dolan MJ, Weiss RA, Ahuja SK (2008)** Duffy antigen receptor for chemokines mediates trans-infection of HIV-1 from red blood cells to target cells and affects HIV-AIDS susceptibility. *Cell Host Microbe* 4 (1): 52-62.

**Henning L Schellenberg D, Smith T, Henning D, Alonso P, Tanner M, Mshinda H, Beck HP, Felger I (2004)** A prospective study of *Plasmodium falciparum* multiplicity of infection and morbidity in Tanzanian children. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 98: 687-694.

**Higgs DR, Hill AVS, Bowden DK, Weatherall DJ, Clegg JB (1984)** Independent recombination events between the duplicated human alpha-globin genes; implications for their concerted evolution. *Nucleic Acids Res.* 12: 6965-6977.

**Higgs DR, Vickers MA, Wilkie AO, Pretorius IM, Jarman AP, Weatherall DJ (1989)** A review of the molecular genetics of the human  $\alpha$ -globin gene cluster. *Blood* 73(5): 1081-1104.

**Higgs DR (1993)**  $\alpha$ -Thalassaemia. *Bailliere`s Clin Haem.* 6: 117-150.

**Hilgers RD, Bauer P, Scheiber V (2003)** Einführung in die Medizinische Statistik. Springer, Berlin Heidelberg.

**Hill AVS, Allsop CEM, Kwiatkowski D, Anstey P, Twumasi PA, Rwoe S, Bennett D, Brewster AJ, McMichael AJ, Greenwood BM (1991)** Common West African HLA antigens are associated with protection against severe malaria. *Nature* 352: 595-600.

**Hill AV (1992)** Molecular epidemiology of the thalassaemias (including haemoglobin E). *Baillieres Clin Haematol.* 5: 209-238.

**Ho M, White NJ, Looareesuwan S et al. (1990)** Splenic Fc receptor function in host defence and anaemia in acute falciparum malaria. *J Infect Dis.* 161: 555-561.

**Hogh B et al. (1995)** Relationship between maternally derived anti-*Plasmodium falciparum* antibodies and risk of infection and disease in infants living in an area of Liberia, West Africa, where malaria is highly endemic. *Inf Immun.* 63: 4034-4038

**Imrie H, Fowkes FJ, Michon P, Tavul L, Hume JC, Piper KP, Reeder JC, Day KP (2006)** Haptoglobin levels are associated with haptoglobin genotype and  $\alpha^+$ -Thalassaemia in a malaria-endemic area. *Am J Trop Med Hyg.* 74(6):965-71.

**Jallow M, Teo YY, Small KS, Rockett KA, Deloukas P, Clark TG, Kivinen K, Bojang KA, Conway DJ, Pinder M, Sirugo G, Sisay-Joof F, Usen S, Auburn S, Bumpstead SJ, Campino S, Coffey A, Dunham A, Fry AE, Green A, Gwilliam R, Hunt SE, Inouye M, Jeffreys AE, Mendy A, Palotie A, Potter S, Ragoussis J, Rogers J, Rowlands K, Somaskantharajah E, Whittaker P, Widdens C, Donnelly P, Howie B, Marchini J, Morris A, SanJoaquin M, Achidi EA, Agbenyega T, Allen A, Amodu O, Corran P, Djimde A, Dolo A, Doumbo K, Drakeley C, Dunstan S, Evans J, Farrar J, Fernando D, Hien TT, Horstmann RD, Ibrahim M, Karunaweera N, Kokwaro G, Koram KA, Lemnge M, Makani J, Marsh K, Michon P, Modiano D, Molyneux ME, Mueller I, Parker M, Peshu N, Plowe CV, Puijalón O, Reeder J, Reyburn H, Riley EM, Sakuntabhai A, Singhasivanon P, Sirima S, Tall A, Taylor TE, Thera M, Troye-Blomberg M, Williams TN, Wilson M, Kwiatkowski DP (2009)** Genome-wide and fine-resolution association analysis of malaria in West Africa. *Nature Genetics* 41: 657-665.

**Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM (1997)** Medizinische Mikrobiologie. 9. Auflage. Georg - Thieme - Verlag. Stuttgart, New York, 530-541.

**Kitua AY, Smith TA, Alonso PL, Urassa H, Masanja H, Kimario J, Tanner M (1997)** The role of low level *Plasmodium falciparum* parasitaemia in anaemia among infants living in an area of intense and perennial transmission. *Trop Med Int Health*. 2(4): 325-333.

**Knüttgen HJ (1961)** Das Verhalten der Macrophagen und die Phagozytose von Parasiten im Knochenmark bei Malaria tropica. *Z Tropenmed Parasitol*. 12: 161-171.

**Koch O, Awomoyi A, Usen S, et al. (2002)** IFNGR1 gene promoter polymorphisms and susceptibility to cerebral malaria. *J Infect Dis*. 185 (11): 1684-1687.

**Koram KA, Owusu-Agyei S, Utz G, Binka FN, Baird JK, Hoffman SL, Nkrumah FK (2000)** Severe anemia in young children after high and low malaria transmission seasons in the Kassena-Nankana district of northern Ghana. *Am J Trop Med Hyg*. 62(6): 670-674.

**Kreienbrock L, Schach S (2005)** Epidemiologische Methoden. 4. Aufl., Elsevier GmbH, München.

**Kretschmer H, Kusch G, Scherbaum H (1999)** Reisemedizin: Beratung in der ärztlichen Praxis. 1. Aufl. Urban und Fischer, München, Stuttgart, Jena, Lübeck, Ulm.

**Kun JF, Mordmuller B, Perkins DJ, et al. (2001)** Nitric oxide synthase 2(Lambarene) (G-954C), increased nitric oxide production, and protection against malaria. J Infect Dis. 184 (3): 330-336.

**Kurtzhals JA, Rodrigues O, Addae M, Commey JO, Nkrumah FK, Hviid L (1997)** Reversible suppression of bone marrow response to erythropoietin in *Plasmodium falciparum* malaria. Br J Haematol. 97(1): 169-174.

**Lang W (2000)** Malaria. In: Tropenmedizin in Klinik und Praxis. 3. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S. 10-33.

**Lee MV, Ambrus JL, DeSouza JML, Lee RV (1982)** Diminished red blood cell deformability in uncomplicated human malaria. J Med. 13: 479-485.

**Le Hesran JY, Personne I, Personne P, Fievet N, Dubois B, Beyemé M, Boudin C, Cot M, Deloron P (1999)** Longitudinal study of *Plasmodium falciparum* infection and immune responses in infants with or without the sickle cell trait. Int J Epidemiol. 28: 793-798.

**Lenzen J (2007)** Beziehung zwischen Malariaparasitämien und Krankheitsepisoden bei Kindern in einem Malariaendemiegebiet in Ghana. Medizinische Dissertation. Universität Hamburg.

**Livingstone FB (1983)** The malaria hypothesis. In Distribution and evolution of the hemoglobin and globin loci (ed. J Bowman), p.15. Elsevier/North-Holland, New York.

**Livingstone FB (1985)** Frequencies of haemoglobin variants. Oxford University Press., Oxford.

**Löscher T, Burchard GD (2010)** Tropenmedizin in Klinik und Praxis mit Reise- und Migrationsmedizin. 4. Aufl., Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart.

**Loftus WK, Chow LTC, Metreweli C (1999)** Sonographic measurement of splenic length: correlation with measurement at autopsy. *J Clin Ultrasound* 27: 71-74.

**Louicharoen C, Patin E, Paul R, Nuchprayoon I, Witoonpanich B, Peerapittayamongkol C, Casademont I, Thanyachai S, Laird NM, Singhasivanon P, Quintana-Murci L, Sakuntabhai A (2009)** Positively Selected G6PD-Mahidol Mutation Reduces *Plasmodium vivax* Density in Southeast Asians. *Science* 326: 1546.

**Luzzatto L, Bienle U (1979)** The malaria/G.-6-P.D. hypothesis. *Lancet* 1 (8127): 1183-1184.

**Luzzi GS, Torii M, Aikawa M, Pasvol G (1990)** Unrestricted growth of *Plasmodium falciparum* in microcytic erythrocytes in iron deficiency and thalassaemia. *Br J Haematol.* 74: 519-524.

**Luzzi GA, Merry AH, Newbold CI, Marsh K, Pasvol G (1991)** Protection by  $\alpha$ -thalassaemia against *Plasmodium falciparum* malaria: modified surface antigen expression rather than impaired growth of cytoadherence. *Immunol Lett.* 30: 233-240.

**Maitland K, Williams TN, Bennett S, Newbold CI, Peto TEA, Viji J, Timothy R, Cleqq JB, Weatherall DJ, Bowden DK (1996)** The interaction between *Plasmodium falciparum* and *P. Vivax* in children on Espiritu Santo island, Vanuatu. *Trop Med Hyg.* 90: 614-620.

**Maitland K, (2000)** The epidemiology of malaria on Espiritu Santo, Vanuatu, South West Pacific. Ph.D., London, External, 52-2221.

**Markell EK, Voge M, John DT (1992)** Malaria. in: *Medical Parasitology*, WB Saunders, Philadelphia, 96-125.

**Markisz JA, Treves ST, Davis RT (1987)** Normal hepatic and splenic size in children: scintigraphic determination. *Pediatr Radiol.* 17(4): 273-276.

**Marsh K, Tulloch S, Oldfield FSJ, Hayes R (1987)** Mortality and morbidity from malaria among children in a rural area of The Gambia, West Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 81: 478-486.

**Marsh K, Snow RW (1999)** Malaria transmission and morbidity. *Parassitologia* 41 (1-3): 241-246.

**Marti HR (1984)** Hemoglobinopathies in developing countries. *Wien Klin Wochenschr.* 96(14): 535-539.

**Mashaal HAH (1986)** Splenomegaly in Malaria. *Indian J Malariol.* 23: 1-18.

**May J, Mockenhaupt FP, Ademowo OG, Falusi AG, Olumese PE, Bienzle U, Meyer CG (1999)** High rate of mixed and subpatent malarial infections in southwest Nigeria. *Am J Trop Med Hyg.* 61 (2): 339-343.

**May J, Evans JA, Timmann C, Ehmen C, Busch W, Thye T, Agbenyega T, Horstmann RD (2007)** Hemoglobin Variants and Disease Manifestation in Severe *Falciparum* Malaria. *Jama* 297 (20): 2220-2226.

**McGuinness D, Koram K, Bennett S, Wagner G, Nkrumah F, Riley E (1998)** Clinical case definitions for malaria: clinical malaria associated with very low parasite densities in African infants. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 92(5): 527-531.

**McGuire W, Hill AV, Allsopp CE, et al. (1994)** Variation in the TNF-  $\alpha$  promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature* 371 (6497): 508-510.

**Menendez C, Kahigwa E, Hirt R, Vounatsou P, Aponte JJ, Font F, Acosta CJ, Schellenberg DM, Galindo CM, Kimario J, Urassa H, Brabin B, Smith TA, Kitua AY, Tanner M, Alonso PL (1997)** Randomised placebo-controlled trial of iron supplementation and malaria chemoprophylaxis for prevention of severe anaemia and malaria in Tanzanian infants. *Lancet* 350(9081): 844-850.

**Menendez C, Fleming AF, Alonso PL (2000)** Malaria-related anaemia. *Parasitol Today* 16: 469-476.

**Meyer CG (2001)** Malaria. In: Meyer CG (Hrsg) *Tropenmedizin - Infektionskrankheiten*. 1. Aufl., ecomed, Landsberg, S.184-198.

**Migot-Nabias F, Pelleau S, Watier L, Guitard J, Toly C, De Araujo C, Ngom MI, Chevillard C, Gaye O, Garcia A (2006)** Red blood cell polymorphisms in relation to *Plasmodium falciparum* asymptomatic parasite densities and morbidity in Senegal. *Microbes Infect.* 8(9-10): 2352-2358.

**Miller LH (1994)** Impact of malaria on genetic polymorphism and genetic diseases in Africans and African Americans. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 2415-2419.

**Miller LH, Baruch DI, Marsh K, Doumbo OK (2002)** The pathogenic basis of malaria. *Nature* 415(6872): 673-679.

**Mockenhaupt FP, Thies FL, Meyer CG (1998)** Malaria im Kindesalter, Pädiatrische Praxis 55, Seite 305-318.

**Mockenhaupt FP (1999a)** Einfluss der  $\alpha^+$ -Thalassämie auf die Infektion mit *Plasmodium falciparum* in einem hyperendemischen Malariagebiet Nigerias. Medizinische Dissertation. Humboldt-Universität Berlin.

**Mockenhaupt FP, Falusi AG, May J, Ademowo OG, Olumese PE, Meyer CG, Bienzle U (1999b)** The contribution of  $\alpha^+$ -thalassaemia to anaemia in a Nigerian population exposed to intense malaria transmission. *Trop Med Int Health* 4(4): 302-307.

**Mockenhaupt FP, Bienzle U, May J, Falusi AG, Ademowo OG, Olumese PE, Meyer CG (1999c)** *Plasmodium falciparum* infection: influence on hemoglobin levels in  $\alpha$ -thalassemia and microcytosis. *J Infect Dis.* 180(3): 925-928.

**Mockenhaupt FP, Ehrhardt S, Eggelte TA, Markert M, Anemana S, Otchwemah R, Bienzle U (2003)** *Plasmodium falciparum* multiplicity correlates with anaemia in symptomatic malaria. Trop Med Int Health. 8(10): 857-859.

**Mockenhaupt FP, Ehrhardt S, Otchwemah R, Eggelte TA, Anemana SD, Stark K, Bienzle U, Kohne E (2004a)** Limited influence of haemoglobin variants on *Plasmodium falciparum* msp1 and msp2 alleles in symptomatic malaria. Trans R Soc Trop Med Hyg. 98(5): 302-310.

**Mockenhaupt FP, Ehrhardt S, Gellert S, Otchwemah RN, Dietz E, Anemana SD, Bienzle U (2004b)**  $\alpha^+$ -thalassemia protects African children from severe malaria. Blood Oct 1;104(7):2003-6.

**Modiano D, Luoni G, Sirima BS, Simporé J, Verra F, Konaté A, Rastrelli E, Olivieri A, Calissano C, Paganotti GM, D'Urbano L, Sanou I, Sawadogo A, Modiano G, Coluzzi M (2001)** Haemoglobin C protects against clinical *Plasmodium falciparum* malaria. Nature 414: 305-308.

**Modiano G, Morpurgo G, Terrenato L et al. (1991)** Protection against malaria morbidity: near fixation of the  $\alpha$ -thalassaemia gene in Nepalese population. Am J Hum Genet. 48: 390-397.

**Mota MM, Pradel G, Vanderberg JP, Hafalla JC, Frevert U, Nussenzweig RS, Nussenzweig V, Rodríguez A (2001)** Migration of *Plasmodium* sporozoites through cells before infection. Science 291 (5501): 141-144.

**Muklawala EC, Banda J, Siziya S, Atenyi J, Fleming AF, Higgs DR (1989)**  $\alpha$ -thalassaemia in Zambian newborn. Clin Lab Haematol. 11: 1-6.

**Murray MJ, Murray AB, Murray MB, Murray CJ (1978)** Infections in iron deficiency and other types of anaemia in the tropics. Br Med J. ii: 1113-1115.

**Murray CJL, Rosenfeld LC, Lim SS, Andrews KG, Foreman KJ, Haring D, Fullman N, Naghavi M, Lozano R, Lopez AD (2012)** Global malaria mortality between 1980 and 2010: a systematic analysis. *Lancet* 379: 413-431.

**Nakashima H, Fujiyama A, Kagiya S, Imamura T (1990)** Genetic polymorphisms of gene conversions within the duplicated human  $\alpha$  globin locus. *Hum Genet.* 84: 568-570.

**Newton CR, Warn PA, Winstanley PA, Peshu N, Snow RW, Pasvol G, Marsh K (1997)** Severe anaemia in children living in a malaria endemic area of Kenya. *Trop Med Int Health* 2(2): 165-178.

**Newton CR, Hien TT, White N (2000)** Cerebral malaria. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 69 (4): 433-441.

**Noor AM, Moloney G, Borle M, Fegan GW, Shewchuk T, Snow RW (2008)** The use of mosquito nets and the prevalence of *Plasmodium falciparum* infection in rural South Central Somalia. *PLoS ONE* 3: e2081.

**O'Dempsey TJ, Mc Ardle TF, Laurence BE, Todd JE, Greenwood BM (1993)** Overlap in the clinical features of pneumonia and malaria in African children. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 87: 662-665.

**Ohmae H, Kawamoto F, Ishii A, Leafasia J, Kere N (1991)** Detecting splenomegaly by ultrasound. *Lancet* 338: 826-827.

**Ong'echa JM, Keller CC, Were T, Ouma C, Otieno RO, Landis-Lewis Z, Ochiel D, Slingluff JL, Mogere S, Ogonji GA, Orago AS, Vulule JM, Kaplan SS, Day RD, Perkins DJ (2006)** Parasitemia, anemia, and malarial anemia in infants and young children in a rural holoendemic *Plasmodium falciparum* transmission area. *Am J Trop Med Hyg.* 74(3): 376-385.

**Ong'echa JM, Davenport GC, Vulule JM, Hittner JB, Perkins DJ (2011)** Identification of inflammatory biomarkers for pediatric malarial anemia severity using novel statistical methods. *Infect Immun.* 79: 4674-4680.

**Oppenheimer SJ, Gibson FD, Macfarlane SB, Moody JB, Harrison C, Spencer A, Bunari O (1986)** Iron supplementation increases prevalence and effects of malaria: report on clinical studies in Papua New Guinea. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 80(4): 603-612.

**Oppenheimer SJ, Hill AV, Gibson FD, Macfarlane SB, Moody JB, Pringle J U (1987).** The interaction of  $\alpha$ -thalassaemia with malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*; 81(2): 322-326.

**Orkin SH (1978)** The duplicated human  $\alpha$  globin lie close together in cellular DNA. *Proc Nat Acad Sci.* 75: 5950-5954.

**O'Shaugnessy DF, Hill AV, Bowden DK, Weatherall DJ, Clegg JB (1990)** Globin genes in Micronesia: origin and affinities of Pacific Island peoples. *Am J Hum Genet.* 46(1): 144-155.

**Othoro C, Lal AA, Nahlen B, Koech D, Orago AS, Udhayakumar V (1999)** A low interleukin-10 tumor necrosis factor-alpha ratio is associated with malaria anemia in children residing in a holoendemic malaria region in western Kenya. *J Infect Dis.* 179: 279-282.

**Paglietti E, Galanello R, Moi P, Pirastu M, Cao A (1986)** Molecular pathology of haemoglobin H disease in Sardinians. *Br J Haematol.* 63(3): 485-496.

**Pasvol G, Weatherall DJ, Wilson RJ, Smith DH, Gilles HM (1976)** Fetal hemoglobin and malaria. *Lancet* 1: 1296-1272.

**Pasvol G, Weatherall DJ, Wilson RJ (1977)** Effects of foetal hemoglobin on susceptibility of red cells to *Plasmodium falciparum*. *Nature* 270: 171-173.

**Pasvol G (2006)** Does  $\alpha^+$ -thalassaemia protect against malaria? *PLoS Med.* 3(5): e235.

**Pattanapanyasat K, Yongvanitchit K, Tongtawe P, Tachavanich K, Wanachiwanawin W, Fucharoen S, Walsh DS (1999)** Impairment of *Plasmodium falciparum* growth in thalassemic red blood cells: further evidence by using biotin labeling and flow cytometry. *Blood* 93(9): 3116-3119.

**Perneger TV, (1998)** What's wrong with Bonferroni adjustments. *BMJ* 316(7139): 1236-1238.

**Phillips RE, Pasvol G (1992)** Anaemia of *Plasmodium falciparum* malaria. *Balliere's Clin Haematol.* 5: 315-330.

**Pirastu M, Lee KY, Dozy AM, Kan YW, Stamatoyannopoulos G, Hadjiminias MG, Zachariades Z, Angius A, Furbetta M, Rosatelli C, Cao A (1982)**  $\alpha$ -thalassaemia in two Mediterranean populations. *Blood* 60: 509-512.

**Pongponratn E, Riganti M, Bunnag D, Harinasuta T (1987)** Spleen in *falciparum* malaria: ultrastructural study. *Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth.* 18: 491-501.

**Powell KR, Smith K, Eberly SW (2001)** Ear temperature measurements in healthy children using the arterial heart balance method. *Clin pediatr.* 40: 333- 336.

**Price RN, Simpson JA, Nosten F, Luxemburger C, Hkirjaroen L, ter Kuile F, Chongsuphajaisiddhi T, White NJ (2001)** Factors contributing to anemia after uncomplicated *falciparum* malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 65(5): 614-622.

**Richter J, Bernardis C, Sagir A, Walter S, Savalli E, Häussinger D (2004)** Is ultrasound a useful adjunct for assessing malaria patients? *Parasitol Res.* 94: 349-353.

**Rihet P, Flori L, Tall F, Traoré AS, Fumoux F (2004)** Haemoglobin C is associated with reduced *Plasmodium falciparum* parasitaemia and low risk of mild malaria attack. *Hum Mol Gen.* 13: 1-6.

**Roberts DJ, Casals-Pascual C, Weatherall DJ (2005)** The Clinical and Pathophysiological Features of Malarial Anaemia. *Curr Top Microbiol Immunol.* 295: 137-167.

**Rooth I, Bjorkman A (1992)** Fever episodes in a holoendemic malaria area in Tanzania: parasitological and clinical findings and diagnostic aspects related to malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 86: 479-482.

**Rund D, Filon D, Jackson N, Asher N, Oron-Karni V, Sacha T, Czekalska S, Oppenheim A (2004)** An unexpectedly high frequency of heterozygosity for  $\alpha$ -thalassemia in Ashkenazi Jews. *Blood Cells Mol Dis.* 33(1): 1-3.

**Russell PF, West LS, Manwell RD, McDonald G (1963)** Historical introduction, Mosquito bionomics, Malaria surveys. In: Russell PF, West LS, Manwell RD, McDonald G. (eds) *Practical malariology*. 2nd edn., Oxford University Press, London, New York, Toronto, pp.1-24, 201-248, 477-500.

**Ruwende C, Khoo SC, Snow RW, Yates SN, Kwiatkowski D, Gupta S, Warn P, Allsopp CE, Gilbert SC, Peschu N (1995)** Natural selection of hemi- and heterozygotes for G6PD deficiency in Africa by resistance to severe malaria. *Nature* 376 (6537): 246-249.

**Schapira A, Beales PF, Halloran ME (1993)** Malaria: living with drug resistance. *Parasitol Today* 9: 168-173.

**Schuhmacher HH (1979)** Pathologische Anatomie der Malaria. In: Dittrich M, Schönfeld H (Hrsg) *Malaria: Diagnose-Klinik-Therapie*. Hahnenklee-Symposium 1979, Editiones "Roche", Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, S41-53.

**Senok AC, Li K, Nelson EA, Yu LM, Tian LP, Oppenheimer SJ (1997a)** Invasion and growth of *Plasmodium falciparum* is inhibited in fractionated thalassaemic erythrocytes. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 91(2): 138-143.

**Senok AC, Nelson EA, Li K, Oppenheimer SJ (1997b)** Thalassaemia trait, red blood cell age and oxidant stress: effects on *Plasmodium falciparum* growth and sensitivity to artemisinin. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 91(5): 585-589.

**Shimizu K, Harano T, Harano K, Miwa S, Amenomori Y, Ohba Y, Kutlar F, Huisman TH (1986)** Abnormal arrangements in the  $\alpha$  and  $\gamma$  globin gene clusters in a relatively large group of Japanese newborns. *Am J Hum Genet.* 38(1): 45-58.

**Shinar E, Rachmilewitz EA (1990)** Oxidative denaturation of red blood cells in thalassemia. *Semin Hematol.* 27(1): 70-82.

**Snow RW, Guerra CA, Noor AM, Myint HY, Hay SI (2005)** The global distribution of clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature* 434 (7030): 214-217.

**Stoute JA, Odindo AO, Owuor BO, Mibei EK, Opollo MO, Waitumbi JN (2003)** Loss of red blood cell-complement regulatory proteins and increased levels of circulating immune complexes are associated with severe malarial anemia. *J Infect Dis.* 187: 522-525.)

**Strickland GT, Fox E, Hadi H (1988)** Malaria and splenomegaly in the Punjab, *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 82(5): 667-670.

**Suzuki A, Hamano S, Shirakawa T, Watanabe K, Endo T, Sharma S, Jha B, Acharya GP, Nishiyama K, Fukumaki Y, Kobayashi S (2007)** The distribution of hereditary erythrocytic disorders associated with malaria, in a lowland area of Nepal: a micro-epidemiological study. *Ann Trop Med Parasitol.* 101(2): 113-122.

**Timmann C, Moenkemeyer F, Evans JA, Foerster B, Tannich E, Haase S, Sievertsen J, Kohne E, Horstmann RD (2005)** Diagnosis of  $\alpha^+$ -Thalasseмииs by Determining the Ratio of the two alpha-Globins Gene Copies by Oligonucleotide Hybridization and Melting Curve Analysis. *Clinchem.* 51: 1711-1713.

**Timmann C, Evans JA, König IR, Kleensang A, Rüschemdorf F, Lenzen J, Sievertsen J, Becker C, Enuameh Y, Kwakye KO, Opoku E, Browne EN, Ziegler A, Nürnberg P, Horstmann RD (2007)** Genome-wide linkage analysis of malaria infection intensity and mild disease. *PloS Genet.* 23;3(3): e 48.

**Trape JF, Peelman P, Morault-Peelman B (1985)** Criteria for diagnosing clinical malaria among a semi-immune population exposed to intense and perennial transmission. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 79: 435-442.

**Trent RJ, Mickelson KNP, Wilkinson T, Yakas J, Bluck R, Dixon M, Liley AW, Kronenberg H (1985)**  $\alpha$ -Globin gene rearrangements in Polynesians are not associated with malaria. *Am J Hematol.* 18(4): 431-433.

**Tzotzos S, Kanavakis E, Metaxotou-Mavromati A, Kattamis C (1986)** The molecular basis of HbH disease in Greece. *Br J Haematol.* 63: 263-271.

**Ubalee R, Tsukahara T, Kikuchi M, Lum JK, Dzodzomenyo M, Kaneko A, Hirayama K (2005)** Associations between frequencies of a susceptible TNF-alpha promoter allele and protective  $\alpha$ -thalassaemias and malaria parasite incidence in Vanuatu. *Trop Med Int Health* 10(6): 544-549.

**Udomsangpetch R, Sueblinvong T, Pattanapanyasat K, Dharmkrong-at A, Kittikalayawong A, Webster HK (1993)** Alteration in cytoadherence and rosetting of *Plasmodium falciparum*-infected thalassaemic red blood cells. *Blood* 82(12): 3752-3759.

**Vandenplas S, Higgs DR, Nicholls RD, Bester AJ, Mathew CG (1987)** Characterization of a new  $\alpha^0$ -thalassaemia defect in South African population. *BR J Haematol.* 66: 539-542.

**Vafa M, Troye-Blomberg M, Anchang J, Garcia A, Migot-Nabias F (2008)** Multiplicity of *Plasmodium falciparum* infection in asymptomatic children in Senegal: relation to transmission, age and erythrocyte variants. *Malar J.* 7: 17.

**Veenemans J, Andang'o PE, Mbugi EV, Kraaijenhagen RJ, Mwaniki DL, Mockenhaupt FP, Roewer S, Olomi RM, Shao JF, van der Meer JW, Savelkoul HF, Verhoef H (2008)**  $\alpha^+$ -thalassemia protects against anemia associated with asymptomatic malaria: evidence from community-based surveys in Tanzania and Kenya. *J Infect Dis.* 198(3): 401-408.

**Wambua S, Mwangi TW, Kortok M, Uyoga SM, Macharia AW, Mwacharo JK, Weatherall DJ, Snow RW, Marsh K, Williams TN (2006)** The effect of  $\alpha^+$ -thalassaemia on the incidence of malaria and other diseases in children living on the coast of Kenya. *PloS Med.* 3(5): e158.

**Weatherall DJ, Clegg JB (1981)** *The Thalassaemias Syndromes.* Oxford: Blackwell Scientific.

**Weatherall DJ (1987)** Common genetic disorders of the red cell and the 'malaria hypothesis'. *Ann Trop Med Parasitol.* 81(5): 539-548.

**Weatherall DJ (1995)** The thalasseмииs, in *William`s Hematology*, 5<sup>th</sup> ed, E Beutler (eds). New York, McGraw-Hill, 581-615.

**Weatherall DJ (1997)** Thalassaemia and malaria, revisited. *Ann Trop Med Parasitol.* 91(7): 885-890.

**Weatherall DJ, Clegg J, Kwiatkowski D (1997)** The role of genomics in studying genetic susceptibility to infectious diseases. *Genome Res.* 7(10): 973-976.

**Weatherall DJ, Clegg JB (2008)** *The Thalassaemia Syndromes.* 4. Aufl., Blackwell Science Ltd, Oxford.

**Weiss L., Geduldig U., Weidanz W (1986)** Mechanisms of splenic control of murine malaria: reticular cell activation and the development of a blood-spleen barrier. *Am J Anat.* 176: 251-285.

**White, NJ (1996)** Malaria, Cook, G. C., Manson's Tropical Diseases Seite 1087-1165, WB Saunders Company Ltd, London.

**WHO (2000)** Severe *falciparum* malaria. World Health Organization, Communicable Diseases Cluster. Trans R Soc Trop Med Hyg. 94 Suppl 1: 1-90.

**WHO/UNICEF (2005)** The World malaria report 2005.

**WHO/UNICEF (2010)** The World malaria report 2010.

**Wickramasinghe SN, Abdalla SH (2000)** Blood and bone marrow changes in malaria. Baillieres Best Pract Res Clin Haematol. 13(2): 277-299.

**Williams TN, Maitland K, Ganczakowski M, Peto Tea, Clegg JB, Weatherall DJ, Bowden DK (1996a)** Red blood cell phenotypes in  $\alpha^+$ -thalassaemias from early childhood to maturity. Br J Haematol. 95: 266-272.

**Williams TN, Maitland K, Bennett S, Ganczakowski M, Peto TEA, Newbold CI, Bowden DK, Weatherall DJ, Clegg JG (1996b)** High incidence of malaria in  $\alpha$ -thalassaemic children. Nature 383: 522-525.

**Williams TN, Wambua S, Uyoga S, Macharia A, Mwacharo JK, Newton CR, Maitland K (2005a)** Both heterozygous and homozygous  $\alpha^+$ -thalassemias protect against severe and fatal *Plasmodium falciparum* malaria on the coast of Kenya. Blood 106(1): 368-371.

**Williams TN, Mwangi TW, Wambua S, Peto TE, Weatherall DJ, Gupta S, Recker M, Penman BS, Uyoga S, Macharia A, Mwacharo JK, Snow RW, Marsh K (2005b)** Negative epistasis between the malaria-protective effects of  $\alpha^+$ -thalassemia and the sickle cell trait. Nat Genet. 37(11): 1160-1162.

**Williamson WA and Greenwood BM (1978)** Impairment of the immune response to vaccination after acute malaria. Lancet i: 1328-1329.

**Yates SNR (1995)** Human genetic diversity and selection by malaria in Africa. D.Phil., Oxford, 45-7935.

**Yeats J, Daley H, Hardie D (1999)** Parvovirus B19 infection does not contribute significantly to severe anaemia in children with malaria in Malawi. *Eur J Haematol.* 63(4): 276-277.

**Yoneto T, Waki S, Takai T, Tagawa Y, Iwakura Y, Mizuguchi J, Nariuchi H, Yoshimoto T (2001)** A critical role of FC-receptor-mediated antibody-dependent phagocytosis in the host resistance to blood-stage *Plasmodium berghei* XAT infection. *J Immunol.* 166: 6236-6241.

**Yuthavong Y, Butthep P, Bunyaratvej A, Fucharoen S, Khusmith S (1988)** Impaired parasite growth and increased susceptibility to phagocytosis of *Plasmodium falciparum* infected  $\alpha$ -thalassemia or hemoglobin Constant Spring red blood cells. *Am J Clin Pathol.* 89(4): 521-525.

**Yuthavong Y, Bunyaratvej A, Kamchonwongpaisan S (1990)** Increased susceptibility of malaria-infected variant erythrocytes to the mononuclear phagocyte system. *Blood Cells* 16: 591-597.

**Yuthavong Y, Wilairat P (1993)** Protection against malaria by thalassaemia and haemoglobin variants. *Parasitol Today* 9(7): 241-245.

**Yuthavong Y, Wilairat P (1997)** Is the high incidence of malaria in  $\alpha$ -thalassaemic children evidence against the 'malaria hypothesis'? *Parasitol Today* 13(6): 207-208.

## 8. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei den tapferen Kindern bedanken, die sich so bereitwillig und geduldig jede Woche befragen und untersuchen ließen. Ebenso möchte ich mich bei deren Eltern für das Vertrauen bedanken, welches sie uns entgegenbrachten.

Herrn Prof. Dr. med. R. D. Horstmann danke ich besonders für die Überlassung des Themas sowie für die Gelegenheit, so wertvolle und unvergessliche Erfahrungen sammeln zu dürfen.

Frau Dr. Jennifer Evans danke ich für die herzliche Betreuung in Ghana und dafür, dass sie immer ein offenes Ohr hatte.

Herrn Dr. Christian Timmann danke ich für die freundliche Betreuung in Hamburg.

Dem Team in Agogo danke ich für die gute Zusammenarbeit und für die gemeinsame Zeit im „White House“.

Jens und Kerstin danke ich für die schönen und lustigen gemeinsamen Stunden, Unternehmungen, Ausflüge und Ablenkungen.

Simone danke ich für die immer interessanten, intensiven und aufmunternden Gespräche, die gemeinsame Zeit und die Freundschaft, die daraus entstanden ist.

Herrn Eickemeier danke ich für die Hilfe beim Erstellen der Abbildungen.

Mein großer Dank gilt meinem Bruder Martin für die konstruktive Kritik, für das Korrekturlesen und für die Hilfe bei Formatierungsfragen.

Meinen Eltern danke ich für die bedingungslose Unterstützung und das Verständnis zu jeder Zeit und in allen Lebenslagen, diese Dankbarkeit lässt sich leider nicht in Worte fassen. Meinem Vater danke ich auch für die Unterstützung in der Fertigstellung dieser Arbeit und meiner Mutter dafür, dass sie diese mit einem unsichtbaren Auge überwacht und begleitet hat.

Meinem wunderbaren Mann Michael danke ich dafür, dass er mich in jeglicher Hinsicht mit so viel Liebe und Verständnis begleitet und unterstützt, mich fördert, aber nicht fordert und mir während der Fertigstellung der Arbeit so oft den Rücken frei gehalten und mir Geduld entgegengebracht hat. Auch diese Dankbarkeit ist nicht in Worten auszudrücken. Zu guter Letzt möchte ich unseren Kindern Ludwig und Greta danken, die so viel Glück und Freude in unser Leben bringen.

## 9. Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name: Geers, geb. Steinhart  
Vorname: Barbara Maria  
Geburtsdatum: 15.05.1974  
Geburtsort: Göttingen  
Familienstand: verheiratet, 2 Kinder

### Schulische Ausbildung

1980-1984 Grundschule Kranzberg  
1984-1986 Orientierungsstufe Buchholz in der Nordheide  
1986-1993 Gymnasium am Kattenberge/Buchholz in der Nordheide  
05/1993 Abitur

### Universitäre Ausbildung

04/1994-10/1995 Studium der Chemie an der Universität Hamburg  
11/1995-09/1996 Auslandsaufenthalt in Florenz/Italien  
10/1996-12/2003 Studium der Humanmedizin an der Universität Hamburg  
06/2004 Erhalt der ärztlichen Approbation

### Beruflicher Werdegang

04/2004-10/2004 Ärztin im Praktikum in der Abteilung für Innere Medizin, Standort Nienburg der Mittelweserkliniken GmbH  
10/2004-04/2007 Assistenzärztin im Praktikum in der Abteilung für Innere Medizin, Standort Nienburg der Mittelweserkliniken GmbH  
04/2007-09/2007 Assistenzärztin in der Allgemeinarztpraxis Dr. Fahlbusch in Hamburg  
10/2007-08/2009 Assistenzärztin in der Gemeinschaftspraxis Dr. Spatz und Partner in Bremen  
06/2009 Facharztprüfung für Allgemeinmedizin  
01/2010-06/2012 Assistenzärztin in der Psychiatrie im Klinikum Bremen Nord  
seit 08/2012 als Fachärztin für Allgemeinmedizin in Bremen tätig

## **10. Eidesstattliche Versicherung**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft wird.