

Aus der Abteilung für Tropenmedizinische Grundlagenforschung des

Bernhard-Nocht-Instituts für Tropenmedizin

Prof. Dr. Rolf Horstmann

**Bezug zwischen Malaria-Parasitämie,
Fieberepisoden und Anämie bei Kindern
eines Endemiegebiets der Malaria**

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg

vorgelegt von

Anton Spandl

aus Roding / Bayern

Hamburg 2006

Angenommen vom Fachbereich Medizin
der Universität Hamburg am: 29.01.2007

Veröffentlicht mit Genehmigung des Fachbereichs
Medizin der Universität Hamburg

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

Prüfungsausschuss, 2. Gutachter: Prof. Dr. G. Burchard

Prüfungsausschuss, 3. Gutachter: PD Dr. E. Stürenburg

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung

1.1	Malaria	1
1.1.1	Erreger und Epidemiologie.....	1
1.1.2	Zyklus der Parasiten.....	1
1.1.3	Klinik und Immunität.....	3
1.2	Anämie	6
1.2.1	Definition	6
1.2.2	Ursachen von Anämie.....	7
1.2.3	Anämie bei Malaria	9
1.3	Fragestellung und Zielsetzung	12

2 Probanden und Methoden

2.1	Probanden.....	13
2.1.1	Studiengebiet	13
2.1.2	Studienpopulation	14
2.1.3	Verwendete Geräte	15
2.2	Methoden.....	16
2.2.1	Durchführung der Studie	16
2.2.2	Feststellung der Parasitämie	17
2.2.3	Ermittlung des Hämatokrit.....	18
2.2.4	Sonographische Milzgrößenbestimmung	19
2.2.5	Statistische Auswertung.....	19

3 Ergebnisse

3.1	Sichtung der Daten	21
3.2	Lineare Korrelationsanalysen.....	25

3.2.1	Quantitative Parasitämie und Hämatokrit.....	25
3.2.2	Hämatokrit und klinische Episoden.....	26
3.2.3	Hämatokrit und Milzgröße.....	27
3.3	Longitudinale Datenanalyse.....	28
3.3.1	Individuelle Verläufe.....	28
3.3.2	Untersuchung von Kollektiven.....	31
4	Diskussion	
4.1	Vergleichsweise niedrige Prävalenz der Anämie als Ausdruck der regelmäßigen medizinischen Versorgung sowie der Eisensubstitution und Gabe von Albendazol.....	36
4.2	Splenomegalie bei Malaria determiniert nicht die Anämie.....	38
4.3	Vorhergehende Parasitendichte als die im Vergleich zur simultanen Parasitendichte bessere Korrelationsgröße in Bezug zur Anämie.....	39
4.4	Unspezifische Entzündungsreaktion mit Verlust von nicht infizierten Erythrozyten als bedeutender Faktor der Anämie-Entwicklung.....	41
5	Zusammenfassung	44
6	Literaturverzeichnis	45
7	Anhang	
7.1	Abbildungen und Tabellen.....	54
7.1.1	Abbildungen.....	54
7.1.2	Tabellen.....	63
7.2	Danksagungen.....	71
7.3	Curriculum Vitae.....	72
7.4	Erklärung.....	73

Abbildungsverzeichnis

1.	Studiengebiet in Ghana.	13
2.	Datenerhebung in der jeweiligen Studienwoche	17
3.	Altersverteilung der Probanden	21
4.	Korrelation Hämatokrit & klinische Episoden (< 4 Jahre)	26
5.	Verteilung der relativen Milzvolumina	27
6-10.	Beispiele für individuelle Verläufe	28-30
11.	Prävalenzen im Verlauf (Gesamtgruppe)	31
12.	Prävalenz der Malaria in verschiedenen Altersgruppen	32
13.	Altersstratifizierte Prävalenz der Malaria-Therapie	32
14.	Prävalenz der Anämie in verschiedenen Altersgruppen	33
15.	Prävalenz der Parasitämie in verschiedenen Altersgruppen	33
16-18.	Prävalenzen im Verlauf in verschiedenen Altersgruppen	34
19.	Verteilung der Parasitämie-Werte	54
20.	Verteilung der logarithmierten Parasitämie-Werte	54
21.	Verteilung der Hämatokrit-Werte	55
22.	Verteilung von Δ Hämatokrit/Woche	55
23.	Verteilung der absoluten Milzvolumina	55
24-26.	Altersverteilung in Altersgruppe 1-3	56
27-32.	Beispiele für individuelle Verläufe	57-62

Tabellenverzeichnis

1.	Kriterien der schweren Malaria nach WHO	5
2.	Anämie definierende Grenzwerte	7
3.	Klassifikation hämolytischer Anämien	8
4.	Anämie beeinflussende Faktoren bei Malaria	10
5.	Einschlusskriterien der Probanden	14
6.	Einteilung in Altersgruppen	22
7.	Prävalenzen von Anämie, Parasitämie, Malaria und Therapie	22
8.	Inzidenzen im Studienzeitraum	23
9.	Häufigkeit von Mischinfektionen	24
10.	Gesamtkorrelation Hämatokrit & Parasitämie	25
11.	Korrelation Hämatokrit und klinische Episoden	26
12.	Inzidenz der Anämie im Studienzeitraum	63
13.	Inzidenz symptomatischer Malaria-Episoden im Studienzeitraum	64
14.	Inzidenz der Parasitämie im Studienzeitraum	65
15.	Lineare Korrelation zwischen Hämatokrit und zeitgleicher Parasitämie für die einzelnen Meßzeitpunkte (Gesamtgruppe)	66
16.	Lineare Korrelation zwischen Hämatokrit und zeitgleicher Parasitämie für die einzelnen Meßzeitpunkte (Altersgruppe 1)	66
17.	Lineare Korrelation zwischen Hämatokrit und zeitgleicher Parasitämie für die einzelnen Meßzeitpunkte (Altersgruppe 2)	67
18..	Lineare Korrelation zwischen Hämatokrit und zeitgleicher Parasitämie für die einzelnen Meßzeitpunkte (Altersgruppe 3)	67
19.	Lineare Korrelation zwischen Hämatokrit und Parasitämie der Vorwoche für die einzelnen Meßzeitpunkte (Gesamtgruppe)	68
20.	Lineare Korrelation zwischen Hämatokrit und Parasitämie der Vorwoche für die einzelnen Meßzeitpunkte (Altersgruppe 1)	68
21.	Lineare Korrelation zwischen Hämatokrit und Parasitämie der Vorwoche für die einzelnen Meßzeitpunkte (Altersgruppe 2)	69
22.	Lineare Korrelation zwischen Hämatokrit und Parasitämie der Vorwoche für die einzelnen Meßzeitpunkte (Altersgruppe 3)	69
23.	Korrelation zwischen verschiedenen Quartilen des Hämatokrit und der Anzahl klinischer Malaria-Episoden	70

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
(A)	Anämie
(M)	Malaria
(P)	Parasitämie
<	kleiner
>	größer
Δ	Differenz
©	Copyright
®	eingetragenes Warenzeichen
α	alpha
γ	gamma
°C	Grad Celsius
BZ	Blutzucker
Hb	Hämoglobin
I	Inzidenz
IFN	Interferon
IgG	Immunglobulin G
IL	Interleukin
n	Anzahl
NO	Stickoxid
O ₂	Sauerstoff
P	Prävalenz
p	Ergebnis eines Signifikanztests
PCV	Hämatokrit (packed cell volume)
r ²	Bestimmtheitsmaß
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
WHO	World Health Organisation

1 Einleitung

1.1 Malaria

1.1.1 Erreger und Epidemiologie

Die Malaria ist eine durch Plasmodien verursachte Protozoeninfektion. Weibliche Stechmücken der Gattung *Anopheles* sind für die natürliche Übertragung von Mensch zu Mensch verantwortlich. Jedoch auch auf dem direkten parenteralen Weg über beispielsweise Bluttransfusionen sind Infektionen möglich, wenngleich selten (Lang 2000).

Nach Schätzungen der WHO muß man mit 300-500 Millionen klinischen Fällen pro Jahr rechnen, wobei über 80% der Malariafälle im tropischen Afrika südlich der Sahara auftreten, von denen ca. eine Million tödlich verläuft. Insbesondere Kinder unter fünf Jahren sind in endemischen Gebieten letal gefährdet (Snow et al. 1999, 2005).

Von mehr als einhundert bekannten Spezies von *Plasmodium* sind vier humanpathogen. Die Plasmodienarten *Plasmodium falciparum*, *vivax*, *ovale* und *malariae* verursachen verschiedene klinische Manifestationen und zeigen auch wesentliche epidemiologische Unterschiede. Dabei hat *Plasmodium falciparum* als Erreger der Malaria tropica die mit Abstand größte klinische Bedeutung und ist für nahezu alle Todesfälle durch Malaria verantwortlich. Die Malaria tertiana wird durch *Plasmodium vivax* oder *ovale* verursacht, Malaria quartana durch *Plasmodium malariae*.

Am höchsten ist das Malariarisiko in den tropischen Ländern Afrikas. Dort finden sich holo- und hyperendemische Gebiete mit überwiegendem Vorkommen von *Plasmodium falciparum*. In Westafrika wird die Malaria tertiana vorwiegend durch *Plasmodium ovale* verursacht, da dort die Bevölkerung vor Infektionen mit *Plasmodium vivax* durch fehlendes Duffy-Blutgruppenantigen geschützt ist (Miller et al. 1976).

1.1.2 Zyklus der Parasiten

Die Protozoen durchlaufen einen komplexen Entwicklungszyklus, wobei eine sexuelle Vermehrung in der weiblichen *Anopheles*mücke (Sporogonie) und eine asexuelle Vermehrung im Menschen stattfindet (Schizogonie). Die Anfänge der Beschreibung des

Zyklus reichen zurück in die Jahre 1897/1898, in denen Ronald Ross und Battista Grassi ihre Arbeiten veröffentlichten (Ross 1897).

Innerhalb von 30 Minuten nach Infektion befallen die infektiösen Stadien der Plasmodien (Sporozoiten) Leberparenchymzellen, wo es durch multiple Kernteilung zur intrazellulären Vermehrung und Entwicklung von Merozoiten kommt (Gewebschizogonie, präerythrozytäre Phase). Bis zu 30.000 Merozoiten können sich in einem Hepatozyten entwickeln. Nach 5 – 12 Tagen rupturieren die infizierten Leberzellen, und es kommt zur Freisetzung der Merozoiten in die Blutbahn, wo sie in zirkulierende Erythrozyten eindringen und dort weitere Entwicklungsstadien durchlaufen: Ringform, Trophozoit, Schizont. Am Ende steht die Zerstörung des Erythrozyten mit Freisetzung von Merozoiten, die erneut Erythrozyten befallen. Krankheitserscheinungen der Malaria treten in dieser Phase der erythrozytären Schizogonie auf, bei Synchronizität des Vermehrungszyklus kommt es periodisch zu Fieberschüben.

Bei Infektion mit *Plasmodium falciparum* verläuft die Schizogonie nicht so synchron wie bei den anderen Arten, so daß bei Malaria tropica oft kein typisches periodisches Fieber auftritt. Regelmäßiger kommt es bei den anderen Malaria-Erregern zur Schizogonie und damit zu Fieberschüben: bei *Plasmodium vivax* und ovale alle 48 Stunden, bei *Plasmodium malariae* alle 72 Stunden.

Ein kleinerer Teil der Merozoiten entwickelt sich zu männlichen und weiblichen Geschlechtsformen (Mikro- und Makrogametozyten). Werden beim Stich der Anophelesmücke Gametozyten aufgenommen, so können sich diese im Vektor weiterentwickeln.

Das gametozytenhaltige Blut gelangt nach der Blutmahlzeit in den Magen der Mücke, wo die Gametozyten sich zu Gameten entwickeln und es zur Vereinigung der Geschlechtsformen kommt. Parasitologisch gilt die Mücke daher als Hauptwirt. Nach einer Weiterentwicklung zu Zygoten und Ookineten durchdringen letztere die Magenwand und werden zu Oozysten, die zahlreiche Sporozoiten enthalten. Diese gelangen in die Speicheldrüsen der Mücke und von dort mit dem Speichel in das menschliche Blut. Für die Entwicklung des Erregers in der Mücke sind Außentemperaturen von mindestens 15° C vonnöten, die Dauer des Zyklus liegt je nach Temperatur zwischen 8 und 16 Tagen (Meyer 2001, Lang 2000).

1.1.3 Klinik und Immunität

Die individuelle Immunitätslage bestimmt entscheidend die Schwere und den Verlauf einer Infektion. Erst nach wiederholten Plasmodieninfektionen entwickelt sich eine erworbene Immunität, die Voraussetzung für das Überleben des Menschen in Endemiegebieten ist. Allerdings ist diese Immunität nicht vollständig, so daß die Erkrankungen lediglich zunehmend leichter verlaufen und das Ausmaß der Parasitämie begrenzt wird. Der Erhalt dieser Semiimmunität ist auf ständige Neuinfektionen angewiesen. Bei einem Aufenthalt in malariafreien Gebieten klingt sie meist innerhalb weniger Jahre ab, so daß nach Rückkehr in ein Endemiegebiet wieder schwere Erkrankungen auftreten können (Lang 2000).

In den ersten Lebensmonaten sind Säuglinge in Malariagebieten durch maternale Antikörper und fetales Hämoglobin vor schweren Krankheitsverläufen geschützt, nach 3 bis 6 Lebensmonaten verlieren sie jedoch diesen Schutz. Der Erwerb der Teilimmunität im Kindesalter wird in den Hochendemiegebieten mit einer hohen Malaria-bedingten Kindersterblichkeit erkaufte.

Die Teilimmunität scheint auf Antikörpern und anderen Abwehrmechanismen zu beruhen, die jeweils spezifisch gegen die verschiedenen beim Menschen vorkommenden Parasitenstadien sind.

Neben der erworbenen Immunität wirken sich einige angeborene genetisch determinierte Anomalien auf den klinischen Verlauf der Malaria aus. Am bekanntesten und am besten gesichert ist hierbei die Sichelzellanämie, die in Westafrika weit verbreitet ist. Bei Trägern des Sichelzell-Gens ist die Mortalität an Malaria geringer. Auch die Thalassemien und ein Mangel am Enzym Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase beeinflussen die Empfänglichkeit für Malaria (Weatherall et al. 2002).

Als wesentliches Organ der Parasitenelimination spielt die Milz bei der Malaria eine besonders wichtige Rolle. Durch einen Mechanismus, der Pitting genannt wird, kann die Milz beispielsweise Parasiten aus zirkulierenden Erythrozyten entfernen (Angus et al. 1997). Bei der akuten Infektion entwickelt sich eine Splenomegalie, und die Häufigkeit der Milzvergrößerung in einer Population korreliert gut mit der Endemizität. In holoendemischen Regionen liegt bei über 75% der Kinder eine Splenomegalie vor.

Die Malaria tropica kann unkompliziert oder kompliziert verlaufen. Wird nicht rasch eine entsprechende Therapie eingeleitet, können Komplikationen auftreten, wobei sich aus einer zunächst unkomplizierten oft schnell eine komplizierte Form entwickelt.

Die schwerwiegende klinische Symptomatik bei *Plasmodium falciparum* im Vergleich zu den anderen Malariaerregern scheint auf zwei bedeutsamen pathogenetischen Unterschieden zu beruhen. Zum einen ist die Parasitämie bei Malaria tropica unbegrenzt, während bei Malaria tertiana ausschließlich junge Erythrozyten befallen werden und bei Malaria quartana das Ausmaß der Parasitämie ebenfalls gering ist. Zum anderen exprimieren die heranreifenden Trophozoiten von *Plasmodium falciparum* Proteine wie das PfEMP1 (P.-falciparum-infected erythrocyte membrane protein 1), die auf der Oberfläche der Erythrozytenmembran präsentiert werden und als Liganden für mikrovaskuläre Zytoadhärenz an Endothelzellen dienen. Dies kann zu einer fast vollständigen Sequestration der mit heranreifenden Schizonten parasitierten Erythrozyten am Endothel von Kapillaren und postkapillären Venolen führen. Die Parasitämie im peripheren Blut spiegelt bei Malaria tropica daher nur einen Teil der tatsächlichen Parasitenlast wieder.

Im Rahmen der Sequestrierung kann es zur Beeinträchtigung der Mikrozirkulation mit lokalen Ischämien kommen. Dieser Mechanismus wird maßgeblich für die Pathogenese der zerebralen Malaria verantwortlich gemacht, welche neben der schweren Anämie zu den beiden wichtigsten Komplikationen der Erkrankung zählt.

Eine unterschiedlich stark ausgeprägte Anämie wird bei allen Formen der Malaria beobachtet. Verschiedene pathophysiologische Prozesse sind bei der Entstehung beteiligt (siehe unten). Tritt im Krankheitsverlauf eine schwere Anämie (Hämoglobin < 5 g/dl) auf, so liegt definitionsgemäß eine komplizierte Malaria vor.

Klinisch sind neben den Fieberattacken gastrointestinale Symptome sehr häufig. Hypoglykämien, Dehydrierung und Krampfanfälle sind bei Kindern häufiger als bei Erwachsenen. Eine Lymphadenopathie tritt nicht auf (Weatherall et al. 2002). Nach dem Auftreten von Koma oder Krämpfen bei zerebraler Malaria kommt es bei Kindern zu verschiedenartigen neurologischen Residuen in mehr als zehn Prozent der Fälle. Beschrieben wurden unter anderem Hemiparesen, Aphasien, zerebelläre Ataxien und mentale Retardierung (Newton et al. 1998, Holding et al. 2001).

In der nachfolgenden Tabelle sind die aktuellen Kriterien der WHO aus dem Jahr 2000 zusammengefasst, die das Vorliegen einer komplizierten Malaria definieren. Ein zutreffendes Kriterium ist ausreichend für die Diagnose der komplizierten Malaria (White NJ 2003).

Tabelle 1. Kriterien der schweren Malaria nach WHO.

- schwere Anämie (Hb < 5g/dl)
- Hyperparasitämie (> 5% der Erythrozyten befallen)
- zerebrale Malaria (Koma länger als 1 Stunde)
- Hypoglykämie (BZ < 40 mg/dl)
- Azidose (pH < 7,35)
- wiederholte generalisierte Krampfanfälle
- Lungenödem
- Bewußtseinsstörungen
- ausgeprägte Schwäche
- Spontanblutungen
- Hämoglobinurie
- Kreislaufversagen, Schock

1.2 Anämie

1.2.1 Definition

Anämien sind definiert durch eine Erniedrigung der Erythrozytenmasse, die sich allerdings nur aufwendig durch Verdünnungsmessung (radioaktiv) markierter Erythrozyten bestimmen lässt. Im klinischen Alltag werden deshalb leicht erfassbare Parameter wie die Hämoglobinkonzentration oder der Hämatokritwert (zellulärer Anteil des Blutes in Prozent) verwendet (Burk et al. 1999).

Diese Meßwerte können bei Hypovolämie, z.B. im Rahmen eines Flüssigkeitsverlustes bei akuter Gastroenteritis, erhöht und scheinbar günstig verändert sein. Umgekehrt kann eine Hypervolämie, die mit erhöhtem Plasmavolumen einhergeht, auch eine Anämie vortäuschen.

Anämie ist keine Diagnose, sondern ein Symptom anderer Erkrankungen oder Mangelerscheinungen. Ihr Leitsymptom ist Blässe, welche auf schwarzer Haut jedoch praktisch nicht sichtbar ist. Blasser Schleimhäute sind unabhängig vom vorliegenden Hauttyp hinweisend auf eine Anämie. Klinisch ist die Anämie häufig asymptomatisch, treten Symptome auf, sind diese meist unspezifisch. In weiten Teilen der Welt ist die Mehrheit der jüngeren Kinder anämisch (May et al. 2000, Schellenberg et al. 2003)

Zur Definition einer Anämie werden häufig noch die 1972 von der WHO veröffentlichten Grenzwerte für die Hämoglobinkonzentration verwendet. Demzufolge liegt eine Anämie vor, wenn bei Kindern im Alter zwischen 6 Monaten und 6 Jahren die Hämoglobinkonzentration unter 11 g/dl sowie bei Kindern im Alter zwischen 7 und 14 Jahren unter 12 g/dl liegt (Roberts et al. 2005).

In dieser Arbeit wird Anämie nach neueren, ebenfalls von der WHO veröffentlichten Grenzwerten definiert (www.who.int/reproductive-health/docs/anaemia.pdf, WHO 2001), die gleichermaßen in aktuellen wissenschaftlichen Arbeiten verwendet werden (May et al. 2000, Hall et al. 2001).

Als anämisch gelten demnach Kinder, deren Hämoglobinkonzentration bzw. Hämatokrit unter folgenden Grenzwerten liegt:

Tabelle 2. Anämie definierende Grenzwerte.

Alter	Hämoglobinkonzentration	Hämatokrit
6 Monate bis 4 Jahre	< 11,0 g/dl	< 33 %
5 Jahre bis 11 Jahre	< 11,5 g/dl	< 34 %

Als schwere Anämie nach WHO gelten unabhängig vom Alter Hämoglobinkonzentrationen < 5 g/dl oder Hämatokritwerte < 15%.

Anhand von Erythrozytenindices können mikrozytäre, normozytäre und makrozytäre Anämien sowie hypochrome, normochrome und hyperchrome Anämien unterschieden werden. Diese Einteilung ist von wesentlicher Bedeutung für die genaue Diagnosestellung.

1.2.2 Ursachen von Anämie

Die Ursachen von Anämie sind zahlreich. Hinsichtlich der Pathophysiologie unterscheidet man zwischen Eisenmangelanämie, Anämien bei chronischen Erkrankungen, Blutungsanämien, hämolytischen Anämien, megaloblastären Anämien sowie aplastischen Anämien. Im folgenden werden einige wichtige Beispiele vorgestellt (Burk et al. 1999).

Eisenmangelanämie. Die grundlegende Bedeutung von Eisen für die Hämoglobin- und Blutbildung macht den Eisenmangel weltweit zur häufigsten Anämieursache. Besonders gefährdet sind Kinder im Wachstumsschub, Frauen mit starken Menstruationsblutungen und Personen mit Mangeldiät, einschließlich Vegetarier. Reine Eisenmangelanämien sind immer mikrozytär und hypochrom. Das Serum-Ferritin als Indikator für den Körperbestand an Speichereisen ist erniedrigt. Man unterscheidet physiologischen Eisenmangel, der entsteht, wenn der aktuell erhöhte Eisenbedarf des Organismus die Resorptionskapazität des Magen-Darm-Trakts überschreitet, und pathologischen Eisenmangel. Letzterer beruht auf chronischen Blutverlusten, z.B. im Rahmen von Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts.

Anämie bei chronischer Entzündung. Chronische Entzündungen sind in industrialisierten Ländern die häufigste Ursache einer Anämie. Durch Entzündungsvorgänge wird Eisen, das in ausreichender Menge vorhanden ist, für die Blutbildung blockiert (Burk et al. 1999).

Renale Anämie. Da die Nieren die Hauptbildungsstätte von Erythropoetin sind, sind normochrome normozytäre Anämien typische Begleiterscheinungen einer chronischen Niereninsuffizienz. Bei Abnahme der Nierenfunktion unter 20% ist immer eine Anämie nachweisbar (Burk et al. 1999).

Anämie bei Hypersplenismus. Eine vergrößerte Milz kann vermehrt Blutzellen abfangen. Die Folgen sind periphere Zytopenie und reaktive Hyperproliferation des Knochenmarks. Das Ausmaß der Zytopenie scheint jedoch nicht mit der Milzgröße zu korrelieren (Shah et al. 1996). In lediglich einer Studie wurde ein Zusammenhang zwischen Milzgröße und Schwere der Anämie berichtet (Gielchinsky et al. 1999).

Hämolytische Anämien. Hämolytische Anämien sind durch eine verkürzte Erythrozytenlebenszeit definiert. Ursache ist ein vorzeitiger intravasaler oder lienaler Abbau der Erythrozyten bei normaler Regenerationsfähigkeit des Knochenmarks.

Tabelle 3. Klassifikation hämolytischer Anämien nach Burk et al. (1999).

Immunhämolyse <ul style="list-style-type: none"> • Wärme- oder Kälteantikörper → autoimmunhämolytische Anämie • Antikörper gegen Medikamente → medikamentös-induzierte hämolytische Anämie
mechanische Hämolyse → mikroangiopathische Hämolyse, Herzklappenfehler, Herzklappenprothesen, Marschanämie
infektiös-toxische Hämolyse (multikausal) → Malaria
Membrandefekte (erworben) → paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie
angeboren: <ul style="list-style-type: none"> • Membrandefekte → hereditäre Spärozytose, Elliptozytose, andere Formveränderungen • Enzymdefekte → defekte Enzyme des Pentosephosphatweges und der Glykolyse • Hämoglobinopathie → Sichelzellkrankheit, Thalassämien, andere Hämoglobinanomalien

Die Ursachen hämolytischer Anämien können im Erythrozyten selbst begründet sein und auf angeborenen Membrandefekten, angeborenen Enzymdefekten oder angeborenen Störungen der Hämoglobinsynthese beruhen. Dazu kommen erworbene, extrinsi-

sche hämolytische Anämien. Es finden sich charakteristische Zeichen der Hämolyse wie Ikterus sine Pruritus, Splenomegalie, erhöhtes indirektes Bilirubin im Serum und normochrome Anämie.

Megaloblastäre Anämien. Typisch ist die Kombination von Makrozytose im peripheren Blut und hyperplastischem zellreichen megaloblastären Knochenmark. Im wesentlichen sind zwei Mangelzustände für diese Gruppe ursächlich: Vitamin B12- und Folsäure-Mangel. Diese Vitamine sind essentiell für die Blutbildung, ein Mangel kann alimentär bedingt oder Folge einer Absorptionsstörung sein. (Burk et al. 1999).

1.2.3 Anämie bei Malaria

Die Anämie im Rahmen der Malaria trägt wesentlich zur Mortalität und Morbidität der Erkrankung bei (Roberts et al. 2005). An der Pathogenese der Malaria-Anämie sind verschiedene Mechanismen beteiligt. Es kommt zur direkten Zerstörung von infizierten Erythrozyten durch die Parasiten, zum Verlust von nicht-infizierten Erythrozyten sowie zu einer ineffektiven Erythropoese, wobei der Stellenwert der einzelnen Faktoren umstritten ist (Ekval 2003). Die Anämie ist typischerweise normozytär und normochrom, wenngleich Mikrozytose und Hypochromie bei Malaria-Infektionen vorkommen können, da die Häufigkeit von Thalassämien und/oder Eisenmangel in vielen Malaria-endemischen Regionen sehr hoch ist (Newton et al. 1997, Yeats et al. 1999).

Verlust von infizierten Erythrozyten. Nach der Beendigung des Wachstumszyklus der Plasmodien in den infizierten Erythrozyten kommt es zur Lyse der temporären Wirtszellen.

Verlust von nicht infizierten Erythrozyten. Bei nicht infizierten Erythrozyten wurde eine verkürzte Lebenszeit festgestellt. Dies scheint zum einen an Veränderungen im Erythrozyten selbst und zum anderen in einer vermehrten Aktivität und Anzahl von Phagozyten zu liegen (Roberts et al. 2005). In aktuellen Arbeiten werden nicht infizierte Erythrozyten für über 90% der Hämolyse bei akuter Malaria verantwortlich gemacht (Price et al. 2001). Eine auf Daten von Neurolues-Patienten beruhende Hochrechnung von Jakeman kommt zu dem Schluß, daß nicht-infizierte Erythrozyten im Vergleich zu infizierten Erythrozyten im Verhältnis von acht zu eins zerstört werden (Jakeman et al. 1999). Ursächlich beteiligt am Verlust der nicht infizierten Erythrozyten scheinen die reduzierte Verformbarkeit der Erythrozyten, Auftreten von Antikörpern und unspezifische Immunmechanismen zu sein (Dondorp et al 1999, Griffiths et al 2001).

Ineffektive Erythropoese. Bei akuter Malaria wurde eine Suppression der Knochenmarksaktivität beobachtet (Dormer et al. 1983, Kurtzhals et al. 1997), während bei chronischen Infektionen häufig hypertrophes Knochenmark vorliegt, wobei die Erythropoese jedoch ineffektiv zu sein scheint (Wickramasinghe et al. 2000). Die Gründe für den Mangel an Retikulozyten in der Gegenwart von Erythropoetin sind unzureichend bekannt (Ekvall 2003).

Anämie beeinflussende Faktoren bei Malaria (Tab. 4). Neben dem Lebensalter eines Patienten scheinen das Vorhandensein von Resistenzen gegenüber Malaria-Medikamenten sowie die Endemizität der Plasmodien die Entwicklung der Malaria-Anämie zu beeinflussen (Ekvall 2003, Trape 2001). Junges Lebensalter gilt als Risikofaktor für die Entwicklung einer Anämie (Premji et al. 1995). Auch genetische Faktoren scheinen im Rahmen der Anämie-Entwicklung eine Rolle zu spielen (Kwiatkowski 2000).

Tabelle 4. Anämie beeinflussende Faktoren bei Malaria.

Parasitäre Faktoren

- Endemizität der humanpathogenen Plasmodien
- Resistenzen gegenüber Malariamedikamenten

Wirtsfaktoren

- Alter
- Genetische Faktoren
- Eisenmangel bzw. Mangel an Vitaminen oder Spurenelementen
- HIV, parasitäre und bakterielle Infektionen

Schwere Anämie. Ein Abfall des Hämatokrit unter 15% wird nur bei einem kleinen Teil der Malaria-Fälle in endemischen Gebieten beobachtet (Miller et al. 2002). Die schwere Anämie wird oftmals als eigene Entität der Dysregulation der Entzündungsreaktion angesehen, die im Zusammenhang mit vererbten Eigenheiten des Immunsystems zu stehen scheint (Akanmori et al. 2000).

Persistierende Anämie. Das rote Blutbild erholt sich bei Patienten mit Malaria oft langsamer als bei Patienten mit einer vergleichbaren Hämolyse anderer Genese (Price et al. 2001). Nach erfolgreicher Therapie und vollständiger Parasiten-Clearance kann die Anämie persistieren (Camacho et al. 1998). Als ein möglicher zugrundeliegender Mechanismus wurde die weitergehende Zerstörung von nicht infizierten Erythrozyten durch Antikörper beschrieben (Facer 1980). Auch die Phagozytose von residualem Malaria-Pigment im Anschluß an die Parasiten-Clearance kann zur Freisetzung von reaktiven Substanzen führen und in einer Hämolyse resultieren (Arese et al. 1998, Greve et al. 2000).

1.3 Fragestellung und Zielsetzung

Mehrere mögliche Ursachen der Anämie bei Malaria sind bekannt und beschrieben worden. Der Stellenwert der einzelnen Mechanismen ist jedoch weitgehend unbekannt, und die Abgrenzung einzelner Entitäten im Rahmen der Genese der Anämie fällt schwer.

In dieser Arbeit wird die Entwicklung der Anämie bei Kindern in einem Endemiegebiet der Malaria untersucht. Auf der Grundlage von longitudinalen Daten soll die Anämie zu vorausgegangenen und gleichzeitigen Parasitämien sowie zu vorausgegangenen Fieber-episoden in Bezug gesetzt werden. Dabei soll auch die mit fortschreitendem Kindesalter einhergehende zunehmende Teilimmunität berücksichtigt werden, indem die unterschiedliche Bedeutung der parasitologischen und klinischen Parameter für einzelne Altersgruppen untersucht wird. Die Ergebnisse können möglicherweise zur Einschätzung der Bedeutung der einzelnen Mechanismen beitragen, die bei der Entwicklung der Malaria-Anämie eine Rolle spielen.

2 Probanden und Methoden

2.1 Probanden

2.1.1 Studiengebiet

Die Studie wurde in der Ashanti-Region in Ghana durchgeführt. Kinder aus 16 Dörfern nahmen daran teil.



Abbildung 1: Studiengebiet in Ghana.

Sekundärer Regenwald bestimmt die Vegetation in diesem Gebiet. Das Klima ist feucht-tropisch, wobei die Temperaturen tagsüber zwischen 28 und 36° Celsius schwanken und nachts auf circa 25° abkühlen. Um sechs Uhr morgens beträgt die mittlere Luftfeuchtigkeit über 90%, gegen drei Uhr nachmittags liegt sie bei ca. 60%. Klassisch werden zwei Regenzeiten beschrieben: eine Hauptregenzeit von Mai bis August und eine Nebenregenzeit von Oktober bis November.

Die Region ist holoendemisch für Malaria bei einer Prävalenz mikroskopisch nachweisbarer Parasitämie von ca. 50%. Bei Kindern im Alter zwischen 2 und 9 Jahren ist die Prävalenz dabei am höchsten. Der größte Anteil aller Malariainfektionen (> 90%) wird durch Plasmodium falciparum verursacht (Browne et al. 2000).

Es handelt sich schließlich um ein Gebiet mit stabiler Transmission, d.h. neue Malaria-Infektionen treten während des gesamten Jahres auf.

2.1.2 Studienpopulation

465 Kinder im Alter zwischen 6 Monaten und 12 Jahren wurden in die Studie eingeschlossen. Einschlusskriterien waren die Zugehörigkeit zur entsprechenden Altersgruppe, die Einwilligung der Eltern, an der Studie teilzunehmen, sowie das Fehlen von Allelen von HbS, HbC, α -Thalassämie sowie Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel bei den Eltern.

Tabelle 5. Einschlusskriterien der Probanden.

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">• Alter 6 Monate bis 12 Jahre• Mindestens zwei Geschwister im Alter 6 Monate bis 12 Jahre, die ebenfalls an der Studie teilnehmen• Einwilligung der Eltern• Fehlen von genetischen Merkmalen, die als malaria-protektiv bekannt sind• Erreichbarkeit der Dörfer mittels Geländewagen |
|--|

Somit besteht die Studiengruppe aus Kindern, bei denen keine bekannten genetischen Veränderungen vorliegen, die sich auf die Klinik der Malaria auswirken. Die teilneh-

menden Kinder haben jeweils mindestens zwei Geschwister, die ebenfalls zur Studien-
gruppe gehören. Dieses Design wurde gewählt, um später eine genetische Kopplungs-
analyse durchführen zu können. Im Auswertungsteil dieser Arbeit werden sämtliche
Individuen als unabhängig voneinander betrachtet, was streng genommen durch die
Familienzugehörigkeiten nicht ganz korrekt ist. Der dadurch entstehende Fehler wird
jedoch als vernachlässigbar eingeschätzt.

Insgesamt verteilen sich die Kinder auf 128 Familien. Das Einverständnis der Eltern
hinsichtlich der Studienteilnahme ihrer Kinder liegt vor. Die Ethikkommission der
School of Medical Sciences, Kwame Nkrumah University of Science and Technology,
Kumasi, Ghana, erteilte ihre Zustimmung zu dem Projekt. Die Ethikkommission der
Ärzttekammer Hamburg hatte sich für nicht zuständig erklärt und auf das entsprechende
Gremium in Kumasi verwiesen.

2.1.3 Verwendete Geräte

Folgende technischen Geräte und Materialien wurden zur Untersuchung der Kinder so-
wie zur Diagnostik der Malaria verwendet:

- Waage, digital (Soehnle®)
- Ohr-Thermometer, digital (Braun®, Thermoscan®)
- Mikrozentrifuge, 12 Volt (LW Scientific®, CLINSPIN Hct®), Drehzahl: 11.000
Umdrehungen/Minute
- 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)

Die erhobenen Daten wurden in die Datenbank 4D® von SA® eingegeben. Mit Hilfe
der Software JMP5.0.1® von SAS-Institute® erfolgten die statistischen Auswertungen.

2.2 Methoden

2.2.1 Durchführung der Studie

Im Zeitraum zwischen Mai und Dezember 2002 wurden die 465 Kinder in den 16 Dörfern wöchentlich von je einem Team besucht, insgesamt 31 mal. Jedes Team bestand aus einem ghanaischen Arzt, einem deutschen Doktoranden, einem Fahrer sowie zwei weiteren Personen. Nach einem strikten Zeitplan wurde jedes Kind von jeweils dem gleichen Team an jeweils dem gleichen Wochentag untersucht und gegebenenfalls behandelt.

Vor Beginn der Studie wurden die Kinder über einen Zeitraum von 6 Wochen oral mit Eisen substituiert (2 mg/kg Körpergewicht), um zu verhindern, daß eine eventuelle Eisenmangelanämie eine Anämie infolge von Malaria vortäuscht. Darüber hinaus wurden die Kinder mit Albendazol (400 mg) behandelt, um eine mögliche Hakenwurm-Infestation zu beseitigen, welche ebenfalls zu Blutverlusten und Anämie führen kann.

Anamnestisch wurde bei den wöchentlichen Besuchen stets nach Fieberepisoden, Selbstmedikation und Art der medizinischen Versorgung (z.B. Krankenhaus) gefragt. Der Arzt untersuchte die Kinder klinisch und ermittelte per aurikulärer Messung die Körpertemperatur.

Im Rahmen der Malariadiagnostik wurde wöchentlich routinemäßig kapilläres Blut von der Fingerbeere zur Anfertigung eines dicken Tropfens sowie eines Blutausstriches gewonnen.

Jede zweite Woche wurde das kapilläre Blut zusätzlich verwendet, um mittels Zentrifugation den Hämatokrit zu ermitteln. Die Mehrheit (ca. 75%) der Hämatokrit-Daten wurde an den ungeraden Wochen erhoben, während die übrigen Werte jeweils in den geraden Wochen bestimmt wurden (siehe Abbildung 2). Diese nicht völlig synchrone Datenerhebung für den Hämatokrit erwies sich als für die Auswertung zum Teil als problematisch. In den entsprechenden Kapiteln wird darauf im Detail eingegangen.

Im Abstand von je vier Wochen wurde die Milzgröße sonographisch bestimmt sowie die Körpergröße und das Gewicht der Kinder ermittelt. Abbildung 2 zeigt den zeitlichen Zusammenhang der Datenerhebung im Studienverlauf.

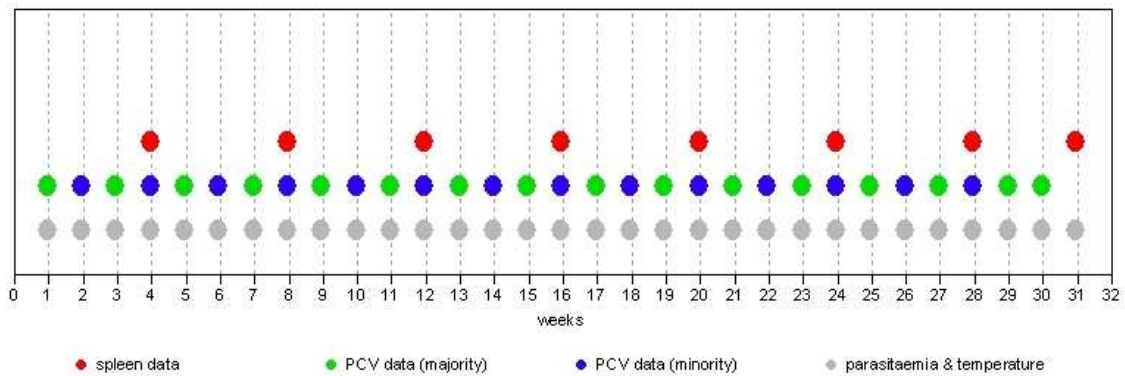


Abbildung 2: Datenerhebung in der jeweiligen Studienwoche

Da die Ausstriche und dicken Tropfen erst später untersucht werden konnten, wurde die Diagnose Malaria im Feld klinisch gestellt. War der Arzt also der Meinung, daß eine symptomatische Malaria-Infektion vorlag, dann wurde mit Chloroquin bzw. Amodiaquin (je 10 mg pro kg Körpergewicht) oral therapiert. Kinder mit anderen Erkrankungen wie z.B. Tinea corporis oder bakteriellen Infekten wurden entsprechend antimykotisch bzw. antibiotisch versorgt.

Für die Auswertung der Daten wurde die gängige WHO-Definition von Malaria-Episoden verwendet, die den Nachweis von Plasmodien im Ausstrich sowie gleichzeitig eine Körpertemperatur über $37,7^{\circ}\text{C}$ bzw. Fieber in den vorhergehenden 48 Stunden beinhalten.

Im Labor in Ghana (in Agogo bzw. Kumasi) wurden täglich die zentrifugierten Kapillarröhrchen zersägt und das Plasma und der zelluläre Anteil mittels Mikropipetten separiert, damit diese beiden Kompartimente getrennt eingefroren werden konnten. Diese Proben sollen für weitergehende Untersuchungen genutzt werden wie beispielsweise zur Bestimmung von Plasmodien-DNA, von Antikörpern oder von Zytokinen.

Lediglich 202 von insgesamt 14415 Besuchen wurden versäumt. Die Compliance lag somit bei 98,6%.

2.2.2 Feststellung der Parasitämie

Parasitämie bedeutet das Vorhandensein von Parasiten im Blut. Häufig wird der Terminus jedoch darüber hinaus zur Beschreibung der Parasitendichte im Sinne von quantitativer Parasitämie verwendet. Die im Feld angefertigten dicken Tropfen und Blutausstriche dienen der mikroskopischen Bestimmung der Parasitämie. Während es beim Aus-

strich darauf ankommt, eine einzelne Zellschicht am Ende des Ausstrichs zu erzeugen (Monolayer), liegen beim dicken Tropfen mehrere Schichten übereinander, was einer Anreicherungstechnik entspricht. Die Identifikation der Spezies gelingt in der Regel nur im Blutausstrich, während der dicke Tropfen zur quantitativen Bestimmung der Parasitämie dient.

Zunächst wurden sämtliche Präparate an der Luft getrocknet. Blutausstriche wurden dann mit Methanol fixiert und anschließend für 5 bzw. 20 Minuten mit May-Grünwald- und Giemsa-Lösung gefärbt.

Dicke Tropfen wurden nicht fixiert, wodurch es beim Färben zum Zerplatzen der Erythrozyten kommt, so daß die Plasmodien nicht wie im Ausstrich intrazellulär sondern frei vorliegen. Die Färbung der dicken Tropfen erfolgte über 40 Minuten mit 3%iger Giemsa-Lösung.

Die Parasiten wurden im dicken Tropfen zunächst per 200 Leukozyten gezählt. Falls dabei weniger als 9 Plasmodien gesehen wurden, wurde die Parasitenlast per 500 Leukozyten gezählt. Da je μl Blut durchschnittlich 8000 Leukozyten enthalten sind, läßt sich die Anzahl der Parasiten pro μl nach folgender Formel berechnen (Burchard et al. 2001):

$$\text{Parasiten}/\mu\text{l} = \text{gezählte Parasiten} \times 8000 / 200 \text{ bzw. } 500$$

Befundet wurde jeder dicke Tropfen von zwei verschiedenen erfahrenen technischen Assistenten in Ghana. Unterschieden sich die Werte um mehr als den Faktor drei, so wurde ein drittes mal von einem dritten Assistenten gezählt. Für die Auswertung wurde jeweils der Median dieser Resultate verwendet.

2.2.3 Ermittlung des Hämatokrit

Nach Hautdesinfektion wurde je Kind ein Kapillarröhrchen mit kapillärem Blut aus der Fingerbeere gewonnen und mit Dichtmittel an einem Ende versiegelt. Der erste Tropfen Blut wurde stets verworfen, da dies sonst falsch niedrige Werte für den Hämatokrit geliefert hätte. Je vier versiegelte Kapillarröhrchen wurden dann unmittelbar nach der Herstellung fünf Minuten lang bei 11.000 Umdrehungen/Minute zentrifugiert.

Die Ablesung des Hämatokrit als zellulärer Anteil des Bluts in Prozent erfolgte mittels normographierter Ablesekarten.

2.2.4 Sonographische Milzgrößenbestimmung

Die Milz wurde mittels eines portablen Ultraschallgerätes mit einem konvexen 3,75 MHz Schallkopf vermessen. Nach einem standardisierten Protokoll wurde die Untersuchung durchgeführt, wobei der untersuchende Arzt rechts neben dem liegenden Kind sitzt.

Die größte Distanz zwischen der Milzkuppel und Milzspitze wurde als Milzlänge (L) definiert, der größte Diameter in rechtwinkliger Lage zur Länge und in derselben Darstellungsebene liegend, als Tiefe 1 (D_L). Als Breite (B) wurde der ebenfalls rechtwinklig zur Länge verlaufende Diameter der Transversalebene definiert, wobei dieser definitionsgemäß durch den Milzhilus verlaufen musste. Die längste Strecke in rechtwinkliger Lage zur Breite wurde als Tiefe 2 (D_B) bezeichnet.

Aus den oben genannten Längenmaßen läßt sich das Milzvolumen über folgende Formel errechnen (Dittrich et al. 1983):

$$\text{Milzvolumen (cm}^3\text{)} = L \times B \times [(D_L + D_B) / 2] \times 0,523$$

2.2.5 Statistische Auswertung

Im Rahmen der Wertestandardisierung wurden die Parasitendichten logarithmiert. Wenn mikroskopisch keine Parasiten detektiert werden konnten, wurde in diesem Zusammenhang von der halben Nachweisgrenze (= 8 Parasiten/ μl) ausgegangen, um den Logarithmus für sämtliche Werte angeben zu können.

Um eine Aussage über die relative Veränderung der Milzgröße machen zu können, wurden Sollvolumina für die Milz in Abhängigkeit von der Körpergröße nach folgender Formel berechnet (Dittrich et al. 1983):

$$\text{Sollvolumen Milz (cm}^3\text{)} = 0,51 \text{ (cm}^2\text{)} \times \text{Körpergröße (cm)} - 13,38$$

Es wurden lineare Korrelationsanalysen erstellt für Hämatokrit und Parasitendichte, Δ Hämatokrit/Woche und Parasitendichte, Hämatokrit und Ist-/Sollvolumen der Milz sowie für Hämatokrit und Anzahl von Malaria-Episoden, wobei verschiedene Zeitfenster gewählt wurden, um den zeitlichen Zusammenhang zu untersuchen. Die aufeinanderfolgenden Meßwerte eines Kindes sind als stochastisch nicht unabhängig voneinander zu betrachten, dennoch wurde dies in der Auswertung zum Teil vernachlässigt, einerseits aufgrund fehlender praktikabler Analysealternativen, andererseits, da die relativ große Streuung der individuellen Verlaufswerte auf eine vergleichsweise geringe Ab-

hängigkeit hinweist. Zum Vergleich wurden deshalb auch die entsprechenden Parameter zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten korreliert, da bei dieser Vorgehensweise keine stochastisch voneinander abhängigen Daten vorliegen.

Im Rahmen der longitudinalen Analyse wurden Punktprävalenzen für Anämie, Parasitämie, Therapie und Malaria-Episoden im zeitlichen Verlauf betrachtet und wie auch die Korrelationsanalysen nach Altersgruppen stratifiziert.

Für Anämie, Parasitämie, Therapie und Malaria-Episoden wurden darüber hinaus die Inzidenzen über den Beobachtungszeitraum berechnet.

Die Einteilung in Altersgruppen erfolgte zunächst willkürlich in drei Gruppen. Im Rahmen der Analyse wurden die Altersgrenzen der Gruppen versuchsweise nach oben und unten verschoben. Die beschriebenen Unterschiede zwischen den Gruppen bleiben dabei erhalten, so daß schließlich die Grenzlinie zwischen den Altersgruppen aus Gründen der Übersicht bei ganzen Zahlen gezogen wurde.

3 Ergebnisse

3.1 Sichtung der Daten

Nach Beendigung der Studie waren alle 465 Probanden am Leben. Ein zwei Jahre altes Mädchen erhielt in der elften Woche der Studie eine Bluttransfusion im Krankenhaus, nachdem eine schwere Anämie (Hb 3,6 g/dl) aufgetreten war. Die Hämatokrit-Werte nach der Transfusion wurden im Rahmen der Korrelationsanalysen nicht berücksichtigt.

Das Verhältnis zwischen den Geschlechtern war annähernd ausgeglichen mit 212 Mädchen (45,6%) und 253 Jungen (54,4%). Gemäß der Einschlusskriterien lag das Alter der Kinder zwischen 6 Monaten und 12 Jahren bei einem mittleren Lebensalter von 6,1 Jahren (Standardabweichung: 3,1 Jahre).

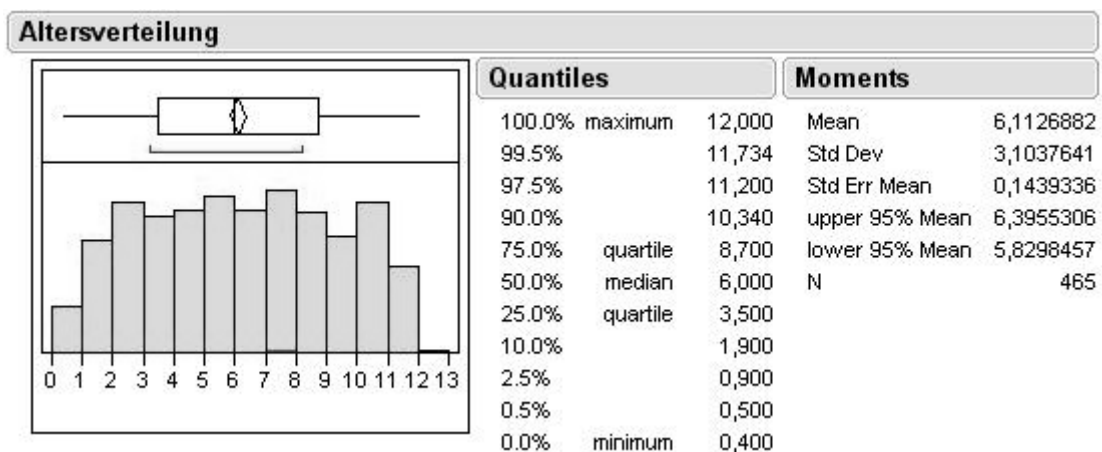


Abbildung 3. Altersverteilung der Probanden.

Die mittlere Prävalenz der Parasitämie betrug 51,6%, wobei die Werte für die quantitative Parasitämie nicht normal verteilt waren und innerhalb eines weiten Bereichs zwischen 0 und tausenden Parasiten/ μ l schwankten (Anhang: Abb. 19). 14241 Ausstrichpräparate wurden ausgewertet. Nach Logarithmierung der Werte befanden sich die Parasitendichten in einem Bereich zwischen 0,9 und 5,5 \log_{10} / μ l (Anhang: Abb. 20).

Der Hämatokrit wurde insgesamt 7137 mal bestimmt. Die Werte sind normalverteilt bei einem Mittelwert von 36,3% und einer Standardabweichung von 4,8% (Anhang: Abb. 21). Ebenfalls normalverteilt sind die berechneten Werte für die Zunahme bzw. den Abfall des Hämatokrit pro Woche (Anhang: Abb. 22).

3501 mal wurde die Milzgröße sonographisch bestimmt. Das Volumen der Milz betrug im Mittel 144 cm^3 (Anhang: Abb. 23).

Um eine differenzierte Auswertung der Daten vornehmen zu können, wurden die Kinder in folgende drei Altersgruppen eingeteilt:

Tabelle 6. Einteilung in Altersgruppen.

Altersgruppe 1	< 4 Jahre
Altersgruppe 2	4 – 7 Jahre
Altersgruppe 3	8 – 12 Jahre

Die zunächst willkürlich gewählten Grenzen der Altersgruppen wurden bei der Auswertung nach oben und unten verschoben, wobei die unten beschriebenen Eigenschaften erhalten blieben. In der Altersgruppe 1 finden sich dieser Einteilung zufolge 134 Kinder (28,8%), in Altersgruppe 2 finden sich 182 Kinder (39,1%), und in Altersgruppe 3 finden sich 149 Kinder (32,0%). Im Anhang sind Details zu den einzelnen Gruppen sichtbar (Anhang: Abb. 24-26).

Für die Gesamtgruppe lag die mittlere Prävalenz der Anämie bei 21,3%, wobei Kinder bis zum Alter von 4 Jahren mit einem Hämatokrit $< 33\%$ und ab einem Alter von 5 Jahren mit einem Hämatokrit $< 34\%$ als anämisch gelten. Die mittlere Prävalenz der Parasitämie lag bei 51,6%, die der klinischen Malaria bei 4,9%, und die der Malaria-Therapie bei 5,7%. Damit zeigten lediglich ca. 10% der Kinder, bei denen Malaria-Parasiten mikroskopisch nachweisbar waren, klinische Symptome wie beispielsweise Fieber. Einen altersstratifizierten Überblick der Prävalenzen zeigt die nachfolgende Tabelle.

Tabelle 7. Mittlere Prävalenzen von Anämie, Parasitämie, Malaria und Therapie.

	Gesamtgruppe	< 4 Jahre	4-7 Jahre	8-12 Jahre
P (Anämie)	21,3%	27,0%	23,0%	14,1%
P (Parasitämie)	51,6%	46,7%	55,5%	51,3%
P (Malaria, sympt.)	4,9%	8,9%	4,4%	2,0%
P (Malaria-Therapie)	5,7%	10,7%	4,4%	3,0%

Jüngere Kinder waren öfter anämisch und symptomatisch erkrankt als ältere Kinder, obwohl die Prävalenz der Parasitämie in der Altersgruppe 1 sogar etwas niedriger war als bei den älteren Kindern.

Im gesamten Beobachtungszeitraum über 31 Wochen entwickelten 74,4% der Kinder mindestens einmal eine Anämie, 62,6% der Kinder waren mindestens einmal klinisch krank, und bei 98,1% der Kinder konnten mindestens einmal mikroskopisch Parasiten nachgewiesen werden. Die altersstratifizierten Inzidenzen für den Studienzeitraum finden sich in der nachfolgenden Tabelle (Tab. 8, Details im Anhang: Tab. 12-14):

Tabelle 8. Inzidenzen im Studienzeitraum für Anämie (A), symptomatische Malaria (M) und Parasitämie (P).

Gesamtgruppe (n=465)			Altersgruppe 1 (n=134)			Altersgruppe 2 (n=182)			Altersgruppe 3 (n=149)		
Inzidenz der Anämie:											
n (A)	n	I (A)	n (A)	n	I (A)	n (A)	n	I (A)	n (A)	n	I (A)
0	119	25,6%	0	21	15,7%	0	39	21,4%	0	59	39,6%
≥ 1	346	74,4%	≥ 1	113	84,3%	≥ 1	143	78,6%	≥ 1	90	60,4%
Inzidenz klinischer Episoden:											
n (M)	n	I (M)	n (M)	n	I (M)	n (M)	n	I (M)	n (M)	n	I (M)
0	174	37,4%	0	30	22,4%	0	63	34,6%	0	81	54,4%
≥ 1	291	62,6%	≥ 1	104	77,6%	≥ 1	119	65,4%	≥ 1	68	45,6%
Inzidenz der Parasitämie:											
n (P)	n	I (P)	n (P)	n	I (P)	n (A)	n	I (P)	n (A)	n	I (P)
0	9	1,9%	0	4	3,0%	0	3	1,6%	0	2	1,3%
≥ 1	456	98,1%	≥ 1	130	97,0%	≥ 1	179	98,4%	≥ 1	147	98,7%

Die hohe Inzidenz der Parasitämie findet sich in allen Altersgruppen. Kinder über 8 Jahre waren mit knapper Mehrheit (54,4%) während der gesamten Studiendauer frei von Krankheitserscheinungen der Malaria. Der Hämatokrit war in dieser Altersgruppe dennoch bei 60,4% der Kinder mindestens einmal Anämie-definierend.

In den positiven Ausstrichpräparaten wurden zu 80,8% Monoinfektionen mit *Plasmodium falciparum* nachgewiesen. Mischinfektionen mit *Plasmodium malariae* waren für weitere 16,0% verantwortlich. In 44 Präparaten waren alle drei in der Region vorkommenden Plasmodienspezies zu finden. Lediglich 2,1% der positiven Ausstriche waren frei von *Plasmodium falciparum*.

Tabelle 9. Häufigkeit von Mischinfektionen.

Plasmodien-Spezies	n	Anteil (%)
<i>P. falciparum</i>	5950	80,8%
<i>P. falciparum</i> & <i>P. malariae</i>	1180	16,0%
<i>P. falciparum</i> & <i>P. malariae</i> & <i>P. ovale</i>	44	0,6%
<i>P. falciparum</i> & <i>P. ovale</i>	34	0,5%
<i>P. malariae</i>	135	1,8%
<i>P. malariae</i> & <i>P. ovale</i>	3	< 0,1%
<i>P. ovale</i>	22	0,3%

3.2 Lineare Korrelationsanalysen

3.2.1 Quantitative Parasitämie und Hämatokrit

Im Rahmen der linearen Korrelationsanalysen kamen grundsätzlich logarithmierte quantitative Parasitämie-Werte zur Anwendung. Es wurden verschiedene Zeitfenster gewählt, um den Zusammenhang zwischen Hämatokrit und Parasitendichte zu untersuchen. Der Hämatokrit wurde korreliert gegenüber der gleichzeitigen Parasitendichte, der Parasitendichte der Vorwoche und der medianen Parasitendichte der vorhergehenden zwei Wochen. Darüber hinaus wurde der Zusammenhang zwischen der Differenz des Hämatokrit zur Vorwoche und den entsprechenden Parasitendichten untersucht.

Die Korrelationen wurden zunächst mit sämtlichen korrespondierenden Wertepaaren durchgeführt (Tab. 10). Individuelle Hämatokrit-Werte sind zwar grundsätzlich als voneinander abhängig zu betrachten, eine Korrelationsanalyse des Hämatokrit mit den Werten der Vorwoche erbrachte jedoch für sämtliche Zeitpunkte r^2 -Werte $< 0,5$, was die große individuelle Streuung der Hämatokrit-Werte widerspiegelt. Anschließend wurde die Korrelationsanalyse zwischen Hämatokrit und Parasitendichte für die einzelnen Studienwochen durchgeführt (Anhang: Tab. 15-22), womit die Ergebnisse der Gesamtkorrelation gestützt werden konnten.

Tabelle 10. Gesamtkorrelation Hämatokrit & Parasitämie (**: $p < 0,0001$, *: $p < 0,04$).

	r^2 (Gesamtgruppe)	r^2 (< 4 J.)	r^2 (4-7 J.)	r^2 (8-12 J.)
Hämatokrit & zeitgleiche Parasitendichte	0,042**	0,088**	0,031**	0,006*
Hämatokrit & Parasitendichte der Vorwoche	0,054**	0,155**	0,036**	0,002*
Hämatokrit & mediane Parasitendichte der letzten zwei Wochen	0,061**	0,149**	0,039**	0,007**
Δ Hämatokrit/Woche & Parasitendichte	0,008**	0,019**	0,006**	0,001*
Δ Hämatokrit/Woche & Parasitämie der Vorwoche	0,004**	0,010**	0,003**	0,001*
Δ Hämatokrit/Woche & mediane Parasitendichte der letzten zwei Wochen	0,002**	0,003*	0,001*	0,001*

Der Zusammenhang zwischen Hämatokrit und Parasitendichte war schwach ausgeprägt. Auffallend war jedoch, daß bei den Kindern unter 4 Jahren die Parasitendichte der Vorwoche ($r^2=0,155$) deutlich besser als die zeitgleiche Parasitendichte ($r^2=0,088$) mit dem Hämatokrit negativ korrelierte. Der zeitgleichen quantitativen Parasitämie in den Korrelationsergebnissen ebenfalls überlegen ist die mediane Parasitendichte der vergangenen zwei Wochen ($r^2=0,149$ für die Kinder im Alter unter 4 Jahren).

Für die Zunahme bzw. die Abnahme des Hämatokrit ließ sich für keine Altersgruppe ein biologisch sinnvoller Zusammenhang mit der Parasitämie herstellen ($r^2<0,02$), wobei die r^2 -Werte aufgrund der hohen Fallzahl dennoch signifikant sind.

3.2.2 Hämatokrit und klinische Episoden

Bei jüngeren Kindern korrelierte die Anzahl der symptomatischen Malaria-Episoden negativ mit dem individuellen medianen Hämatokrit ($r^2=0,18$ für Kinder < 4 Jahre, $p<0,0001$)

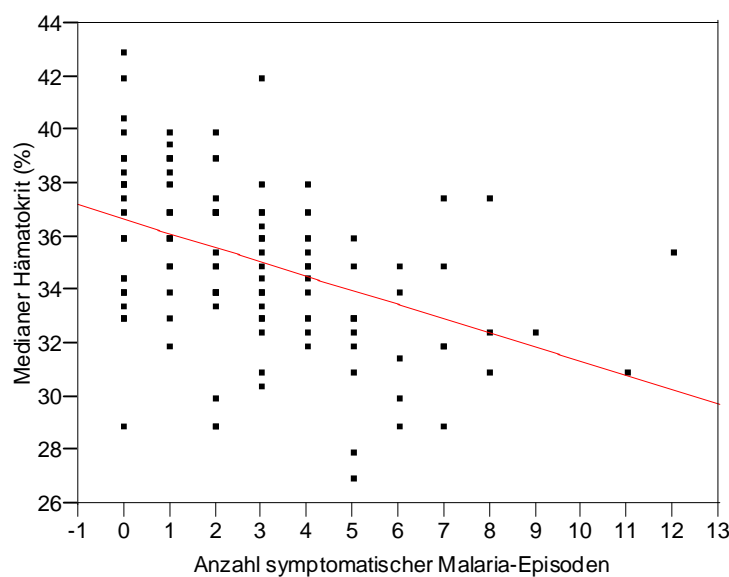


Abbildung 4. Korrelation Hämatokrit & klinische Episoden (Kinder < 4 Jahre).

Tabelle 11. Korrelation Hämatokrit und klinische Episoden.

Gesamtgruppe (n=465)	Alter < 4 Jahre (n=134)	Alter 4 – 7 Jahre (n=182)	Alter 8 – 12 Jahre (n=149)
r^2 p	r^2 p	r^2 p	r^2 p
0,180 <0,0001	0,182 <0,0001	0,145 <0,0001	0,034 <0,05

Bei der Auswertung wurde die Anzahl der klinischen Episoden auch zu anderen Quantilen des Hämatokrit korreliert (Anhang: Tab. 23), wobei der negative Zusammenhang stets erkennbar ist.

3.2.3 Hämatokrit und Milzgröße

Nach Berechnung des Milzvolumens aus den sonographisch gemessenen Daten und Berechnung des Sollvolumens der Milz entsprechend der Körpergröße der Kinder wurde der Quotient zwischen Ist- und Soll-Volumen ermittelt. Im Median waren die Milzen der Kinder um den Faktor 2-3 gegenüber dem Sollvolumen vergrößert (Abb. 5).

Mittels linearer Korrelationsanalyse konnte kein Zusammenhang zwischen Hämatokrit und relativer Milzvergrößerung hergestellt werden.

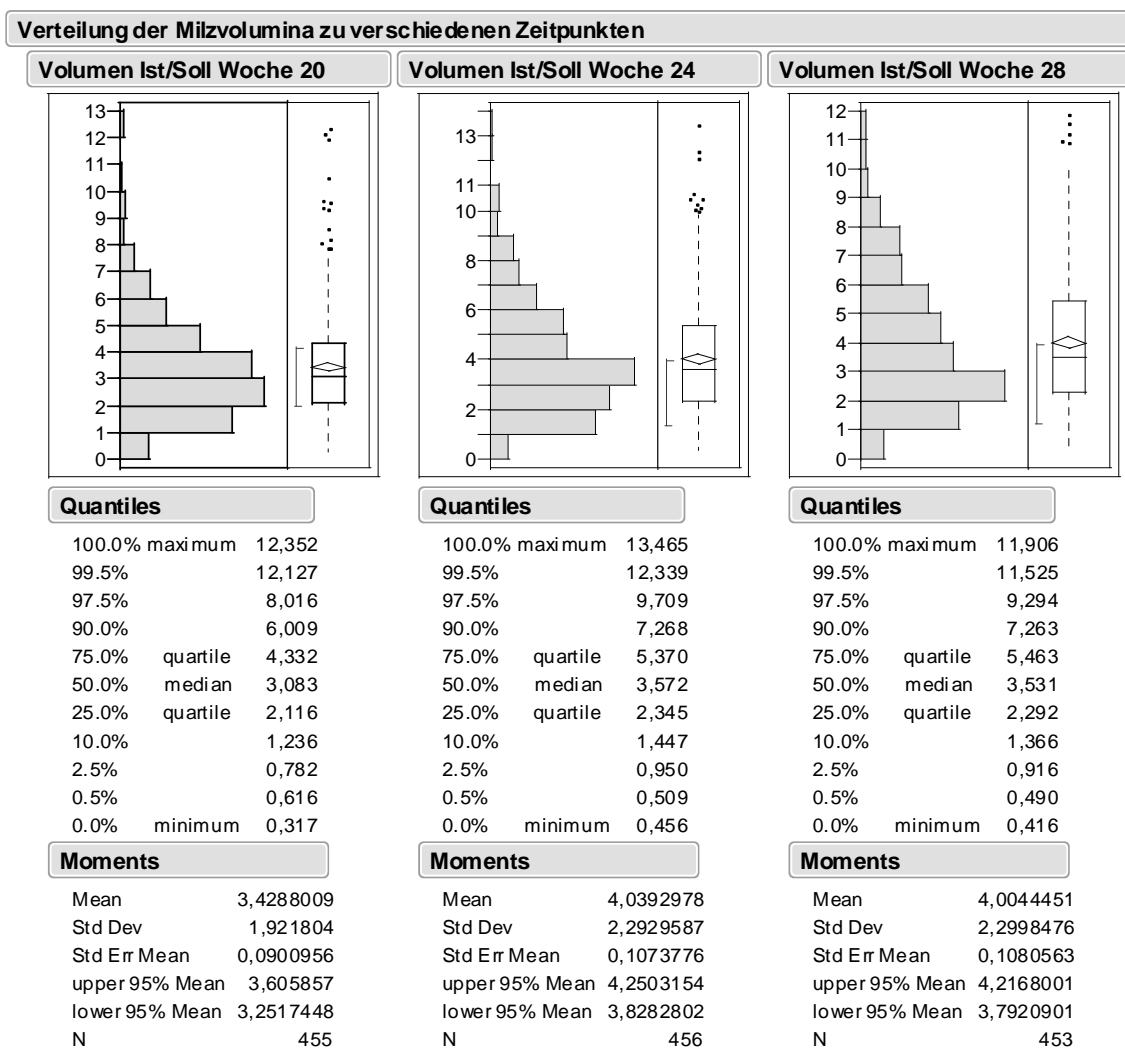


Abbildung 5. Verteilung der Milzvolumina.

3.3 Longitudinale Datenanalyse

3.3.1 Individuelle Verläufe

Für jedes einzelne Kind wurde ein Verlaufplot erstellt, in dem die Parameter Hämatokrit, quantitative Parasitämie, klinische Malaria-Episoden und Malaria-Medikation enthalten sind. Um des Spektrum der Verläufe darzustellen, werden hier exemplarisch einige Individuen im Verlauf vorgestellt (Abb. 6-10), weitere Individualverläufe finden sich im Anhang (Anhang: Abb. 27-32).

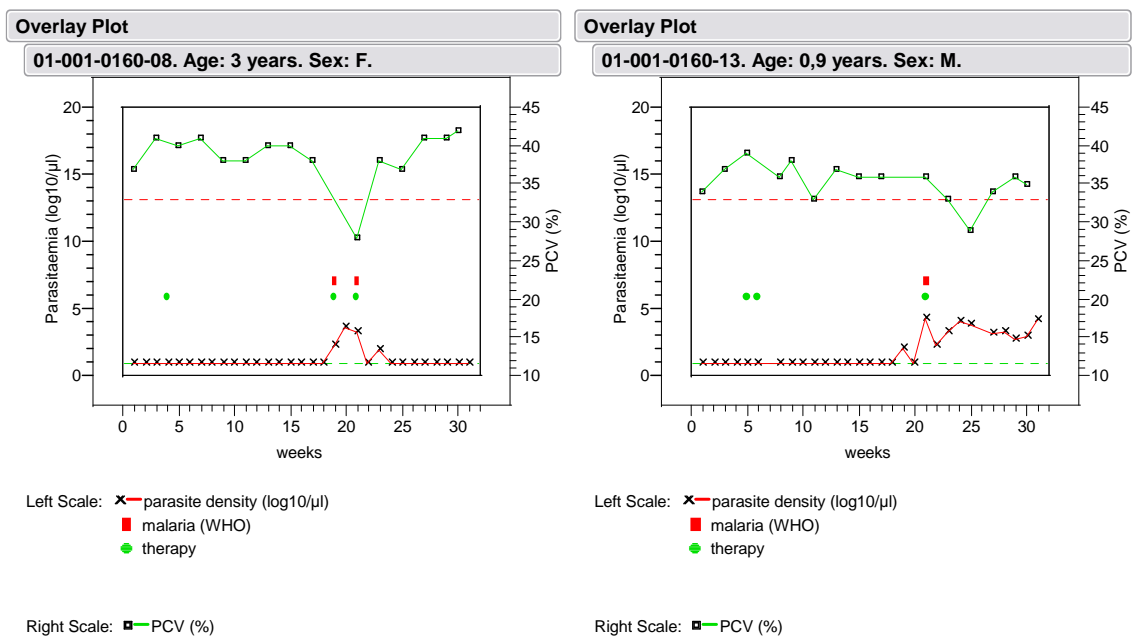


Abbildung 6. Beispiele (1) für individuelle Verläufe.

Diese beiden Kinder präsentierten einen stabilen Hämatokrit in der Zeit, in der keine Parasiten nachweisbar waren. Parasitämie führte in beiden Fällen zu Krankheitsepisoden (als rote Rechtecke dargestellt), wobei jeweils der Hämatokrit zunächst abfiel und sich nach Therapie (repräsentiert durch grüne Punkte) wieder erholte. Hämatokrit-Werte unterhalb der rot gestrichelten Linie gelten als anämisch. Der 11 Monate alte Junge war nach Malaria-Therapie frei von symptomatischen Krankheitsepisoden, es kam jedoch zu keiner vollständigen Parasiten-Clearance, so daß in diesem Fall von einer Medikamentenresistenz auszugehen ist.

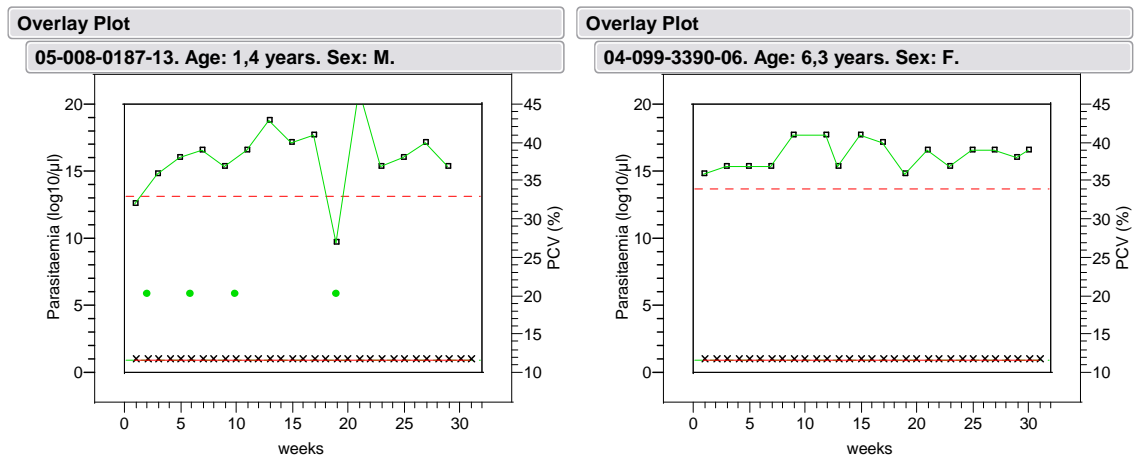


Abbildung 7. Beispiele (2) für individuelle Verläufe.

Bei beiden Kindern waren mikroskopisch im gesamten Studienzeitraum keine Parasiten nachweisbar. Der 1,4 Jahre alte Junge wurde dennoch insgesamt vier mal mit Malaria-Medikamenten therapiert, wobei das Fieber auf einer gänzlich anderen Genese als der der Malaria beruhen kann oder aber die Ursache eine mikroskopisch nicht nachweisbare Parasitämie war. Bei dem 6,3 Jahre alten Mädchen hingegen traten in den 31 Wochen keine Symptome der Malaria auf, sie war zu keinem Zeitpunkt anämisch.

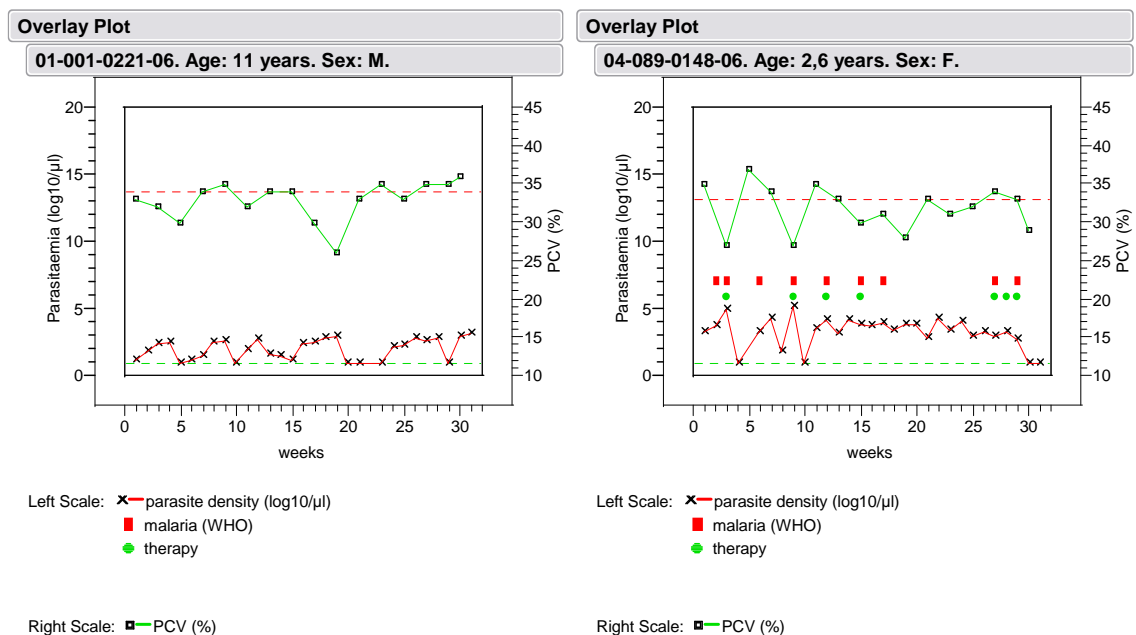


Abbildung 8. Beispiele (3) für individuelle Verläufe.

Beide Kinder waren häufig anämisch bei nachweisbaren Parasitämien. Der 11 Jahre alte Junge entwickelte während der gesamten Studie keine Symptome der Malaria, während das 2,6 jährige Mädchen häufig krank war und entsprechend behandelt wurde.

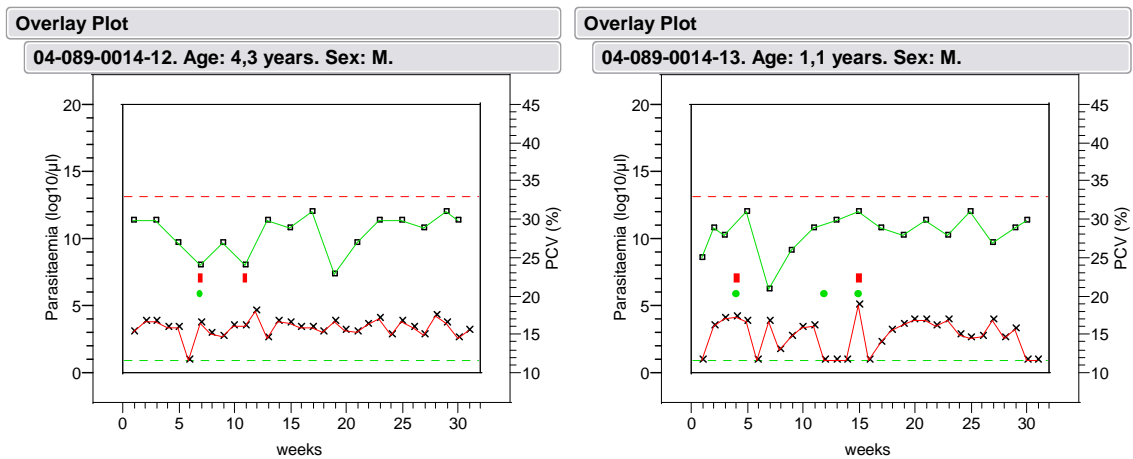


Abbildung 9. Beispiele (4) für individuelle Verläufe.

Diese beiden Geschwister waren stets anämisch. Parasiten waren meist nachweisbar, allerdings führte dies nur zu je zwei symptomatischen Krankheitsepisoden.

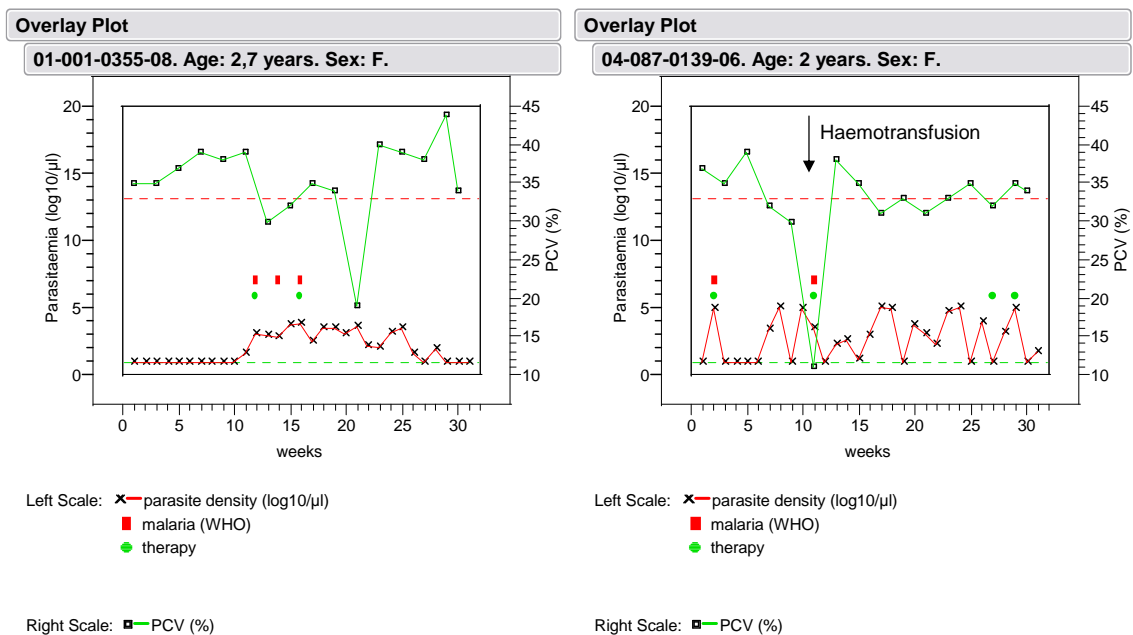


Abbildung 10. Beispiele (5) für individuelle Verläufe.

Dieses 2,7 Jahre alte Mädchen wurde in Woche 21 anämisch, wobei keine Symptome auftraten. Ohne therapeutische Maßnahmen lag der Hämatokrit zwei Wochen später wieder im Normbereich. Das andere 2 Jahre alte Mädchen wurde im Krankenhaus transfundiert und oral mit Amodiaquin behandelt, nachdem eine schwere Anämie (Hämatokrit 11%) aufgetreten war. Sowohl vor als auch nach dem Ereignis wurden hohe Parasitämien toleriert.

3.3.2 Untersuchung von Kollektiven

In der gesamten Studiengruppe bewegte sich die Prävalenz der Parasitämie zwischen 39,4 und 59,0% bei einer mittleren Parasitämie-Prävalenz von 51,6%. Lediglich jedes zehnte Kind mit nachweisbaren Parasiten im Blut war symptomatisch: die Prävalenz der Malaria-Fälle lag zwischen 2,2 und 9,1%, im Mittel betrug sie 4,9%.

In der Auswertung wurden die Hämatokrit-Werte der aufeinanderfolgenden ungeraden und geraden Studienwoche jeweils zusammen betrachtet, da die Erhebung der Daten für diesen Parameter nicht vollständig synchron erfolgt war. Im Verlauf bewegte sich die Prävalenz der Anämie zwischen 13,3 und 29,0% (P_{mittel} : 21,3%). Abbildung 11 zeigt den Verlauf der Prävalenzen für die gesamte Studiengruppe.

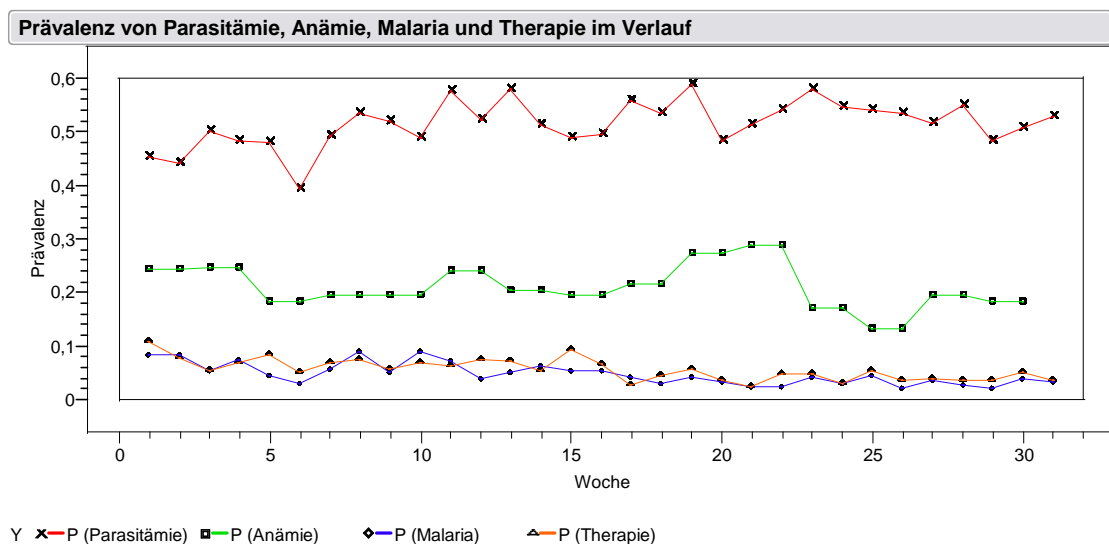


Abbildung 11. Prävalenzen für Parasitämie, Anämie, Malaria und Therapie im Verlauf.

Im folgenden werden die Kinder verschiedener Altersgruppen untersucht und miteinander verglichen. Dabei zeigte sich die Überlegenheit der longitudinalen Daten gegenüber von Daten aus einer Querschnittstudie: die Charakteristika der Gruppen waren zu unterschiedlichen Zeitpunkten verschieden stark ausgeprägt, und somit ist die Betrachtung der Parameter im Verlauf wesentlich aussagekräftiger.

Während des ganzen Studienverlaufs waren die jüngeren Kinder häufiger symptomatisch krank als die älteren (Abb. 12).

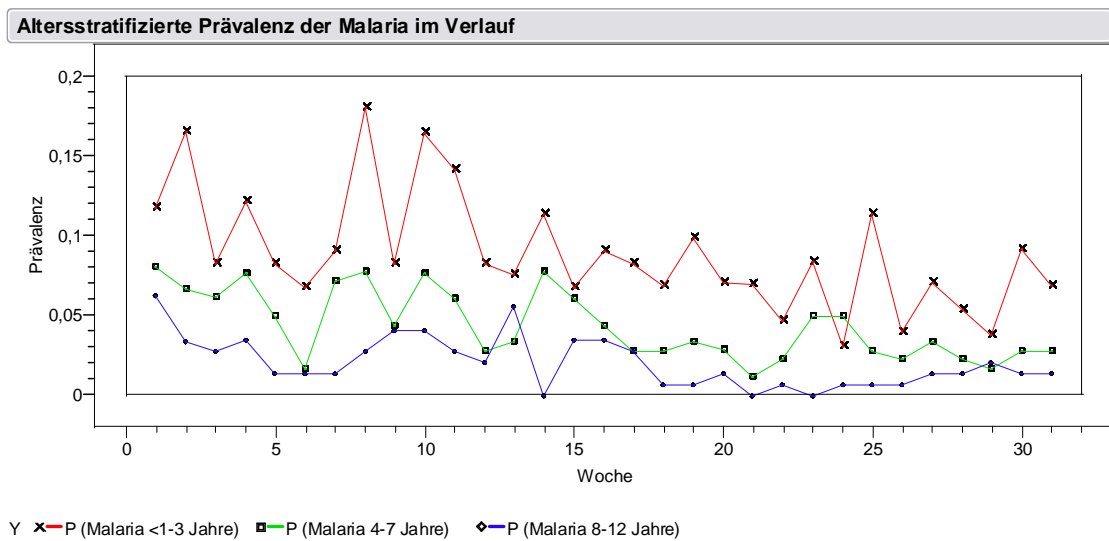


Abbildung 12. Prävalenz der Malaria in verschiedenen Altersgruppen.

Entsprechend häufiger wurden die jüngeren Kinder mit Malaria-Medikamenten behandelt (Abb. 13).

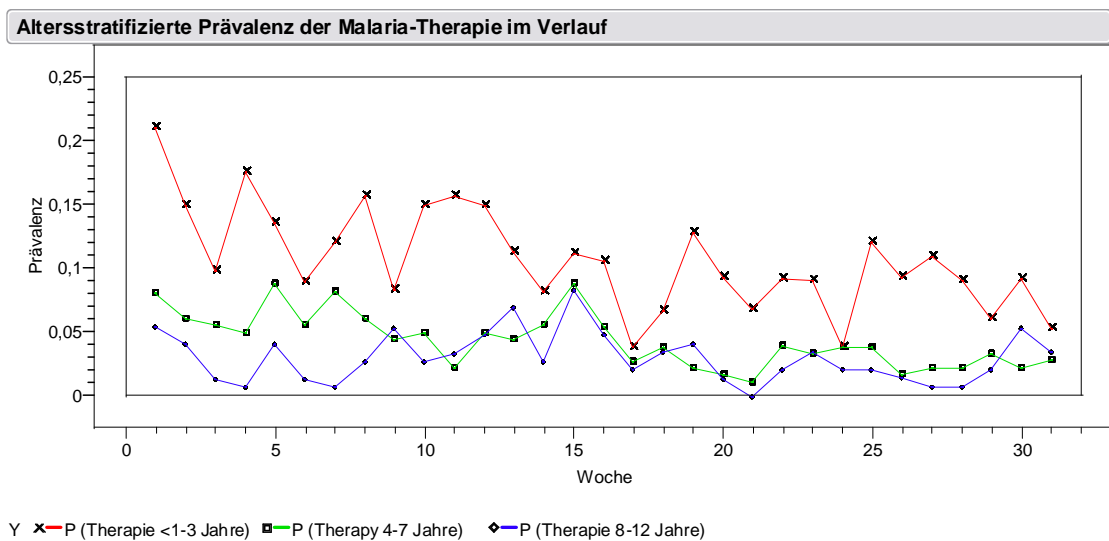


Abbildung 13. Prävalenz der Malaria-Therapie in verschiedenen Altersgruppen.

Jüngere Kinder waren im Verlauf häufiger anämisch (Abb. 14). Die mittlere Prävalenz der Anämie betrug 27,0% für Kinder im Alter unter 4 Jahren, 23,0% für Kinder im Alter zwischen 4 und 7 Jahren, und 14,1% für Kinder im Alter zwischen 8 und 12 Jahren.

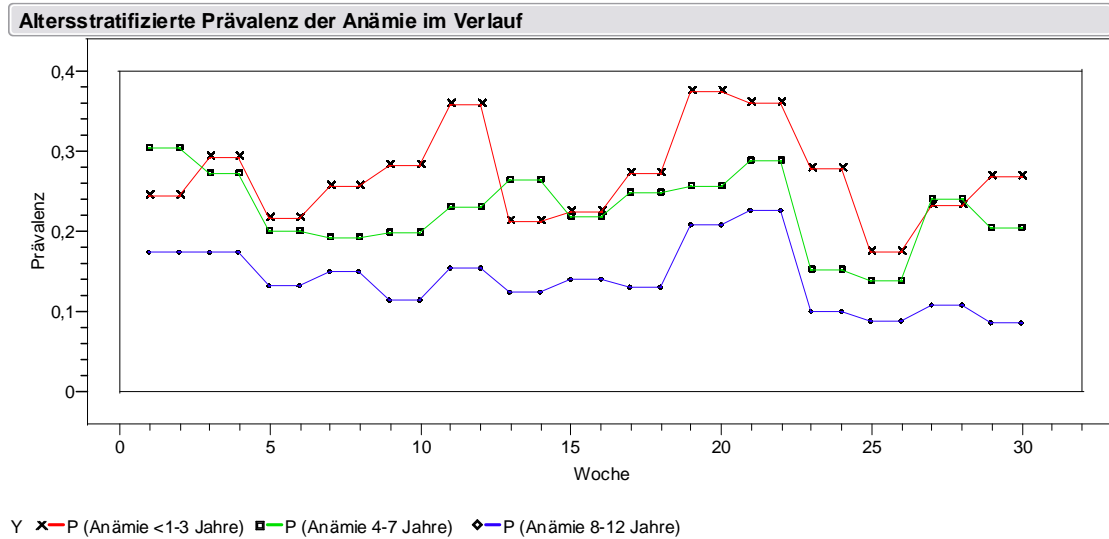


Abbildung 14. Prävalenz der Anämie in verschiedenen Altersgruppen.

Die Parasitämie unterschied sich im Verlauf hinsichtlich ihrer Prävalenz in den verschiedenen Altersgruppen nicht wesentlich (Abb. 15). Bei den Kindern unter 4 Jahren war die mittlere Prävalenz der Parasitämie mit 46,7% am niedrigsten.

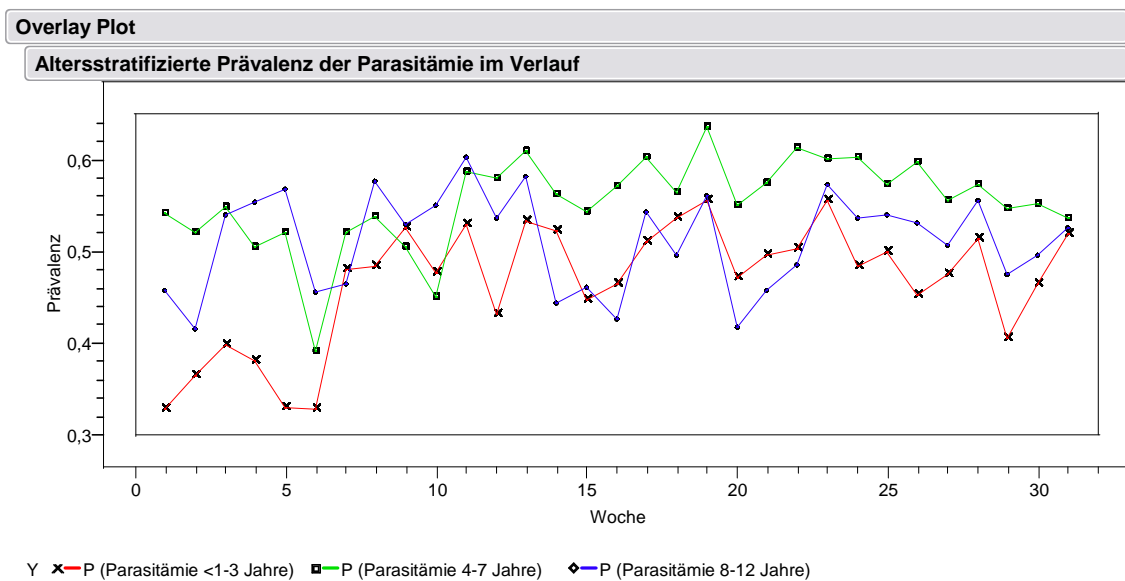


Abbildung 15. Prävalenz der Parasitämie in verschiedenen Altersgruppen.

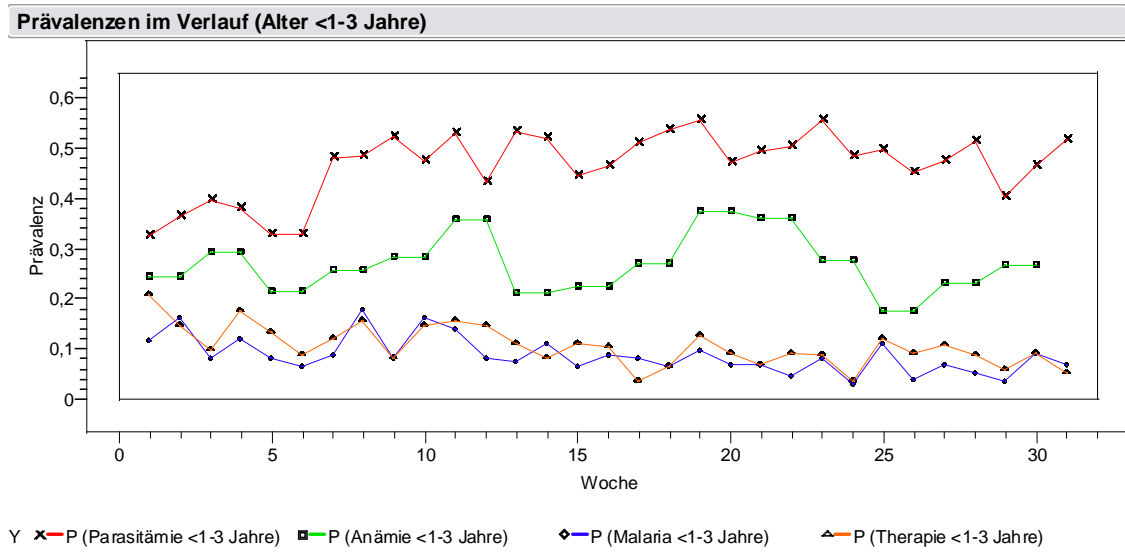


Abbildung 16. Prävalenzen im Verlauf für Kinder im Alter unter 4 Jahren.

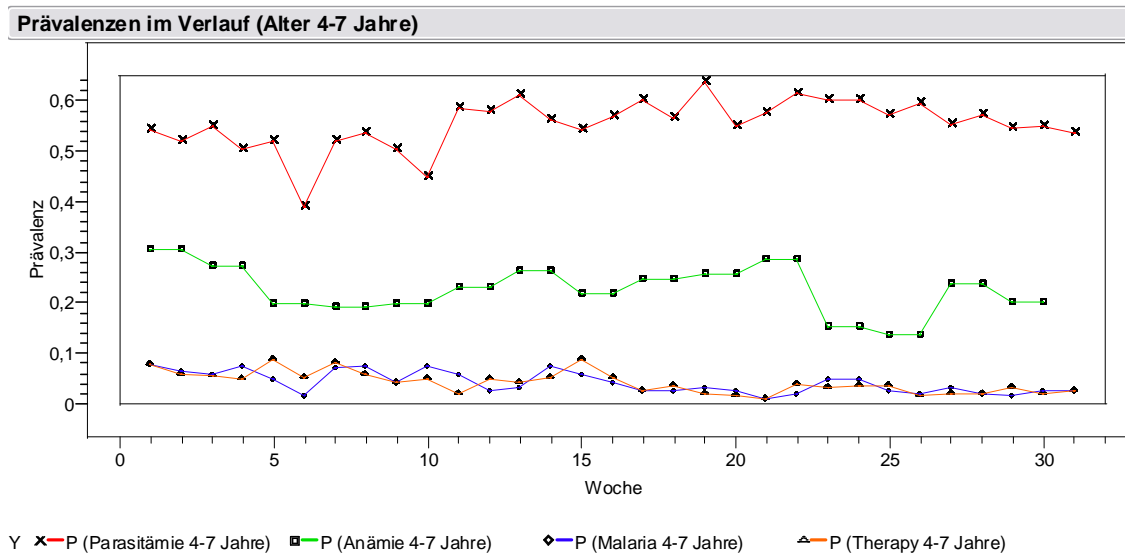


Abbildung 17. Prävalenzen im Verlauf für Kinder im Alter von 4-7 Jahren.

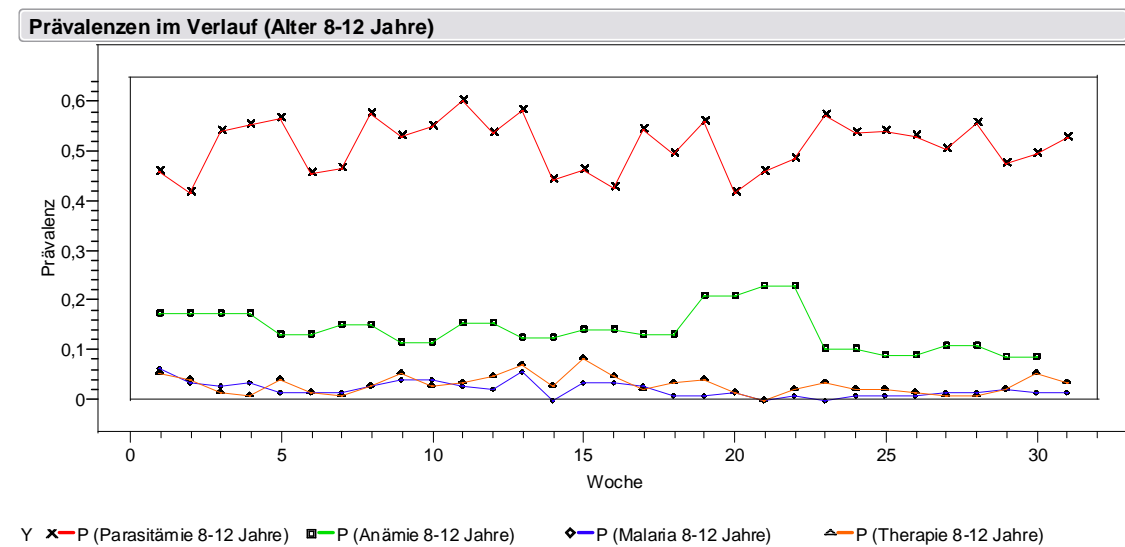


Abbildung 18. Prävalenzen im Verlauf für Kinder im Alter von 8-12 Jahren.

In den Abbildungen 16-18 sind die jeweiligen Altersgruppen mit den dazugehörigen Prävalenzen im Verlauf zu sehen. Die Unterschiede in den Prävalenzen sind dabei durch Vergleich der Abbildungen zu erkennen. Mit zunehmendem Alter waren die Kinder weniger häufig von symptomatischen Fieberepisoden betroffen und weniger häufig anämisch, wobei die Prävalenz der Parasitämie im höheren Alter nicht abnahm.

4 Diskussion

4.1 Vergleichsweise niedrige Prävalenz der Anämie als Ausdruck der regelmäßigen medizinischen Versorgung sowie der Eisensubstitution und Gabe von Albendazol

Eine aktuelle Querschnittstudie in Ghana, die in den Städten Accra und Kumasi durchgeführt wurde, zeigt eine Anämie-Prävalenz von 47,1% bei Kindern im Alter zwischen sechs Monaten und fünf Jahren (Klinkenberg et al. 2006). Nach den neuen WHO-Definitionen liegt eine Anämie bei Kindern im Alter zwischen 6 Monaten und 4 Jahren vor, wenn der Hämatokrit unterhalb von 33% liegt, bei Kindern im Alter zwischen 5 und 11 Jahren, wenn der Hämatokrit unterhalb von 34% liegt.

In der Volta Region, einer ländlichen Gegend in Ghana, wurden Kinder im Alter zwischen 7 und 14 Jahren hinsichtlich einer vorliegenden Anämie untersucht. Dabei stellten sich über 40% der 7-11jährigen Kinder als anämisch heraus (Hall et al. 2001). Die Prävalenz der Anämie wird für Vorschulkinder in Nigeria mit über 60% (Roberts et al. 2005, May et al. 2000), für Kinder unter fünf Jahren in Tanzania mit 87% (Schellenberg et al. 2003), und für Schulkinder zwischen 7 und 14 Jahren in Mali, Tansania und Mozambique mit 50 bis 70% beziffert (Hall et al. 2001). Obwohl die einzelnen Angaben zur Häufigkeit der Anämie durch verschiedenes Design der Studien und der Verwendung von zum Teil etwas unterschiedlichen Anämie-Definitionen nur bedingt vergleichbar sind, wird deutlich, daß in weiten Teilen der Welt die Verbreitung von Anämie bei Kindern enorm ist.

Im Vergleich dazu finden sich Anämien bei unseren Probanden deutlich weniger häufig, denn je nach Altersgruppe liegt nur bei 14 bis 27% der Kinder zum jeweiligen Zeitpunkt eine Anämie vor. Dieser Unterschied ist zum einen auf die Eisensubstitution und Behandlung der Kinder mit Albendazol vor Beginn der Studie zurückzuführen. Damit „fehlt“ bei unseren Probanden der Teil der Anämien, die durch Eisenmangel und chronischen Blutverlust bei Infektion mit Hakenwürmern verursacht wird. Zum anderen wurden die Kinder wöchentlich von einem Arzt untersucht und gegebenenfalls behandelt, d.h. symptomatische Malariaepisoden wurden frühzeitig therapiert. Hinsichtlich

des Zugangs zur ärztlichen Versorgung stellen die Probanden daher eine Positiv-Auswahl dar, und sie sind diesbezüglich nicht repräsentativ für die entsprechende Bevölkerungsgruppe. Die Bedeutung der regelmäßigen medizinischen Versorgung für die Entwicklung von Anämie wird auch dadurch betont, daß die Prävalenz für Anämie zum Ende der Studie nicht höher ist als zu Beginn, obwohl die Kinder lediglich zu Studienbeginn mit Eisen substituiert worden waren, so daß die Vorbehandlung nicht die alleinige Ursache für die niedrige Prävalenz der Anämie zu sein scheint, denn dann wäre eher ein Anstieg der Anämie-Prävalenz durch eine zunehmende Entleerung der Eisenspeicher zu erwarten.

Die frühzeitige Malaria-Therapie ist somit im Effekt vergleichbar mit den Ergebnissen einer Studie von Menendez in Tansania. Dort konnte die Anämie-Prävalenz durch eine Kombination von Eisen-Substitution und Malaria-Prophylaxe deutlich gesenkt werden (Menendez et al. 1997). Nach dem Ende der Intervention wurden in Tansania jedoch bei Kindern, die Malaria-Prophylaxe erhalten hatten, im Vergleich zur Kontrollgruppe annähernd doppelt so viele Fälle von schwerer Anämie und Malaria-Erkrankungen festgestellt – dies wurde als Beeinträchtigung der Entwicklung der natürlichen Immunität durch die Malaria-Prophylaxe interpretiert (Menendez et al. 1997). Durch eine frühzeitige Malaria-Therapie wird die Entwicklung der Teilimmunität vermutlich nicht oder nur gering beeinträchtigt, da in diesem Fall zunächst immer eine Immunreaktion mit Fieber auftritt, bevor eine Malaria-Medikation eingesetzt wird.

Ein wichtiges anzustrebendes Ziel der Zukunft ist die Reduzierung der Prävalenz und Ausprägung von Anämie in Endemiegebieten der Malaria, nicht zuletzt, weil die Anämie bei einer Malaria-Erkrankung wesentlich zur Morbidität und Mortalität der Erkrankung beiträgt (Roberts et al. 2005). Dabei wird von großer Bedeutung sein, ob es der nationalen und internationalen Politik gelingt, der gesamten Bevölkerung, also auch den zahlreichen armen Menschen in ländlichen Gegenden, einen prompten Zugang zu medizinischer Versorgung zu ermöglichen und für adäquate Nahrung zu sorgen. Die Substitution von Vitaminen und Eisen zusammen mit effektiver Malaria-Therapie scheint synergistisch die Prävalenz von Anämie bei Kindern in Endemiegebieten zu senken (Ekvall et al. 2000).

4.2 Splenomegalie bei Malaria determiniert nicht die Anämie

Eine vergrößerte Milz kann prinzipiell vermehrt Erythrozyten abfangen und aus der Zirkulation entfernen (Burk et al. 1999). Viele verschiedene Erkrankungen gehen mit einem Hypersplenismus einher. Allerdings wurde lediglich bei Patienten mit Morbus Gaucher, einer Sphingolipidose, eine negative Korrelation zwischen Milzgröße und dem Hämoglobinspiegel beschrieben (Gielchinsky et al. 1999).

Bei den Kindern unserer Studie findet sich ein Hypersplenismus aufgrund der rezidivierenden Malaria-Infektionen sehr häufig, wobei jedoch kein Zusammenhang zwischen der relativen Milzvergrößerung in Bezug zum Sollvolumen und dem Ausmaß der Anämie besteht. In früheren Malaria-Studien wurde die Milzrate bereits als unabhängig vom Hämatokrit beschrieben (Premji et al. 1995). Es ist unzureichend bekannt, unter welchen Umständen eine vergrößerte Milz zu einer Anämie führt. Bei Patienten mit Hypersplenismus in Folge von Leberzirrhose mit portaler Hypertension war kein Zusammenhang zwischen Milzgröße und Anämie beobachtet worden (Shah et al. 1996). Auch im Tierversuch mit Ratten zeigte sich keine Korrelation zwischen der Milzvergrößerung im Rahmen einer Infektion mit *Trypanosoma brucei* und *congolense* und dem Hämatokrit (Igbokwe et al. 1997). Ebenso wenig konnte bei hämatologischen Erkrankungen ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Milzvolumen und der Erythrozytenmasse festgestellt werden (Toghill et al. 1972, Zhang et al. 1989).

4.3 Vorhergehende Parasitendichte als die im Vergleich zur simultanen Parasitendichte bessere Korrelationsgröße in Bezug zur Anämie

Eine prinzipielle Assoziation zwischen Parasitämie und Anämie bei jüngeren Kindern ist unumstritten und wurde in zahlreichen Studien dokumentiert (Premji et al. 1995). Hinsichtlich des Zusammenhangs zwischen quantitativer Parasitenlast und Anämie finden sich je nach Studiendesign, Probandenanzahl und gewählter Auswertungstechnik sowohl wissenschaftliche Veröffentlichungen, die keine Korrelation zwischen den beiden Größen ausmachen (Das et al. 1999, Nkuo et al. 2002), als auch solche, die eine unterschiedlich ausgeprägte Korrelation beschreiben (Lusingu et al. 2004, Kitua et al. 1997, Newton et al. 1997, Idro et al. 2006). Longitudinale Studien sind in dieser Frage sicherlich aussagekräftiger, wegen des hohen Aufwands sind sie aber nur selten durchgeführt worden. Prospektive Daten von Kindern unter zwei Jahren aus Tanzania konnten zwar keine einheitliche Assoziation zwischen gleichzeitiger Parasitendichte und dem Hämatokrit zeigen, weisen jedoch auf einen kumulativen Effekt der Parasitenlast bezüglich der Entwicklung von Anämie hin (Ekvall et al. 2001).

In der von uns durchgeführten longitudinalen Studie in Ghana ist bei den jüngeren Kindern der Zusammenhang zwischen Hämatokrit und gleichzeitiger quantitativer Parasitämie zu den einzelnen Zeitpunkten zwar relativ schwach ausgeprägt, dabei jedoch in den meisten Fällen signifikant (Anhang: Tab. 16). Die lineare Korrelation des Hämatokrit mit der quantitativen Parasitämie der Vorwoche erbringt stets signifikante und höhere r^2 -Werte (Anhang: Tab. 20). Damit zeigt sich die Parasitenlast der jüngeren Vergangenheit in Bezug zum Hämatokrit als der aktuellen Parasitenlast überlegen. Auch Korrelationsanalysen zwischen der medianen Parasitendichte der vergangenen Wochen und dem Hämatokrit unterstützen diese Aussage, da hier ähnliche r^2 -Werte resultieren. Bei Kindern mit unkomplizierter Malaria und asymptomatischer Infektion scheint daher die quantitative Parasitämie einen verzögerten Einfluß auf den Hämatokrit zu haben.

Die Aussagekraft der quantitativen Parasitämie als Marker für die Parasitenlast im Körper ist bei Infektionen mit *Plasmodium falciparum* eingeschränkt, da mit reiferen Stadien der Plasmodien infizierte Erythrozyten zur Sequestration am Endothel von Kapillaren und postkapillären Venolen neigen und damit dem Nachweis im peripheren Blut entgehen. Starke tageszeitliche Schwankungen der Parasitämie scheinen vorzukommen.

Innerhalb von wenigen Stunden wurde bei asymptomatischen jungen Männern im Rahmen einer Studie in Mali häufig eine 100fache oder höhere Variation der Parasitämie festgestellt, und damit die Frage nach einem besseren Parameter zur Einschätzung der Malaria aufgeworfen (Delley et al. 2000). Als Marker für die tatsächliche Parasitenbiomasse im Körper wurde unlängst die quantitative Bestimmung des Proteins PfHRP2 (=Plasmodium falciparum histidin-rich protein2) vorgeschlagen (Dondorp et al. 2005). Diese Methode befindet sich jedoch noch in der experimentellen Phase, und es bleibt abzuwarten, ob die mikroskopische Auszählung von Parasiten im peripheren Blut durch ein aussagekräftigeres Verfahren abgelöst oder ergänzt werden kann. Einstweilen bleibt die Bestimmung der quantitativen Parasitämie der Goldstandard für die Einschätzung der vollständigen Parasitenlast.

4.4 Unspezifische Entzündungsreaktion mit Verlust von nicht infizierten Erythrozyten als bedeutender Faktor der Anämie-Entwicklung

Der von uns beobachtete Zusammenhang zwischen der Anzahl der symptomatischen Malaria-Episoden und dem medianen Hämatokrit bei den jüngeren Kindern ($r^2=0,18$; $p<0,0001$) deutet darauf hin, daß der zugrundeliegende Mechanismus eine wesentliche Rolle bei der Entwicklung einer Anämie im Rahmen der unkomplizierten Malaria spielt. Vorrangig scheint es dabei zu einem durch eine Entzündungsreaktion bedingten Verlust von nicht infizierten Erythrozyten zu kommen. Die Gründe für diese Annahme werden unten diskutiert. Anhand von prospektiven Daten aus Tanzania konnte bereits gezeigt werden, daß der mediane Hämatokrit bei Kindern mit einer oder mehreren Fieberepisoden im Vergleich zu asymptomatischen Kindern erniedrigt ist (Ekvall et al. 2001).

Quantitativ scheint die Zerstörung von infizierten Erythrozyten eine untergeordnete Rolle zu spielen (Price et al. 2001). Die Destruktion von infizierten Erythrozyten erfolgt entweder direkt durch die Parasiten oder durch Anlagerung von Immunglobulinen und/oder Komplementfaktoren mit anschließender Phagozytose durch Makrophagen (Groux und Gysin 1990, Scholander et al. 1998). Andere Signale zur Erkennung von infizierten Erythrozyten sind möglicherweise abnormal rigide Zellmembranen sowie die Exprimierung von Phosphatidylserin und veränderten Wirtsantigenen (Dondorp et al. 1999, McGilvray et al. 2000, Waitumbi et al. 2000).

Für die ineffektive Erythropoese bei Malaria werden die Sekretion von $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IFN-}\gamma$ und MIF durch aktivierte T-Lymphozyten (Clark et al. 1988, Martiney et al. 2000), lokale Freisetzung von O_2 -Radikalen und NO (Greve et al. 2000, Kun et al. 2001), Dysfunktion von Makrophagen (Schwarzer et al. 1992) und direkte Effekte von Parasiten oder Parasiten-Produkten auf das Knochenmark verantwortlich gemacht (Wickramasinghe et al. 2000). Angesichts der relativ großen Schwankungen der individuellen Hämatokrit-Werte im Verlauf unserer Studie kann jedoch der Einfluß der Knochenmarksinhibition auf das Ausmaß der Anämie als vergleichsweise gering eingeschätzt werden. Die Zunahme des Hämatokrit wäre in Gegenwart einer ausgeprägten Dyserythropoese nicht zu erklären. In Einzelfällen wie beispielsweise bei Koinfektion mit Parvovirus

B-19 scheint die Suppression des Knochenmarks jedoch einen wesentlichen Beitrag zur Entwicklung der Anämie leisten zu können (Gupta und Singh 2005).

Es besteht keine Einigkeit darüber, wie es zum Verlust von nicht infizierten Erythrozyten kommt. Bereits in den 70er Jahren wurde in klinischen Studien eine erhöhte Häufigkeit von positiven Coombs-Tests bei Malaria dokumentiert, was auf eine vermehrte Bindung von Immunglobulinen und Komplement an nicht infizierte Erythrozyten hinweist (Facer et al. 1979, Abdalla et al. 1983). Dabei konnte jedoch keine Assoziation zwischen positivem Coombs-Test und schwerer Anämie festgestellt werden (Roberts et al. 2005). Die Bedeutung von Coombs-positiver Anämie und von autoimmuner Hämolyse bei Malaria-Patienten ist insgesamt unklar, da die erythrozytären Oberflächen-Antikörper nicht kontinuierlich beobachtet werden (Goka et al. 2001). Die Anzahl der IgG-Moleküle je Erythrozyt ist zudem gering, was von einigen Autoren als Indiz dafür angesehen wird, daß dies nicht zu einer vermehrten Elimination durch Makrophagen führt (Ekvall 2003). Schließlich wird die Spezifität der Immunglobuline kontrovers beurteilt. Einige Autoren halten diese Antikörper für nicht spezifisch, sondern vielmehr für Antigen-Antikörper-Immunkomplexe, die der Zellmembran der Erythrozyten angeheftet sind (Roberts et al. 2005). Bei Malaria-Patienten sind die Erythrozyten weniger verformbar, wobei die herabgesetzte Verformbarkeit mit dem Ausmaß der Anämie korreliert (Dondorp et al. 1999). In der Milz scheinen weniger verformbare Erythrozyten verstärkt aus der Zirkulation entfernt zu werden, und die verringerte Verformbarkeit scheint der Ausdruck einer vorzeitigen Alterung der Zellen zu sein (Ekvall 2003). Zahlreiche Hypothesen wurden hinsichtlich des spezifischen Zellsignals, das alte und junge Erythrozyten unterscheidet und als Trigger für die Phagozytose dient, formuliert (Bratosin et al. 1998). Im Rahmen der Immunantwort gegen die Plasmodien werden proinflammatorische Zytokine produziert (TNF- α , IFN- γ u.a.), die Makrophagen zur Ausschüttung von O₂- und NO₂-Radikalen veranlassen. Diese unspezifische Immunantwort führt zu oxidativen Schäden an parasitierten und nicht parasitierten Erythrozyten (Griffiths et al. 2001, Greve et al. 1999) und wird von uns als bedeutender Faktor für die Entwicklung der Anämie bei jüngeren Kindern mit unkomplizierter Malaria eingeschätzt, da die anderen oben genannten Mechanismen hinsichtlich des oben beschriebenen Zusammenhangs zwischen der Anzahl von Fieberepisoden und dem medianen individuellen Hämatokrit weniger plausibel sind. Möglicherweise kann auch Malaria-Pigment eine unspezifische Entzündungsreaktion verursachen (Carney et al. 2006).

Schließlich kann auch eine bakterielle Infektion die Malaria klinisch perfekt imitieren und gleichfalls mit einer (schweren) Anämie einhergehen (Evans et al. 2004). Möglicherweise wird die Anämie bei manchen bakteriellen Infekten durch eine ähnliche unspezifische Entzündungsreaktion verursacht. Erst vor wenigen Jahren wurde festgestellt, daß viele proinflammatorische Zytokine (TNF, IL-1 u.a.) ihrerseits endogene Pyrogene darstellen (Conti et al. 2004). Das Thermoregulationszentrum befindet sich im vorderen Hypothalamus, und die Produktion von Prostaglandin E2 (=PGE2) sowie die Aktivierung hypothalamischer PGE2-Rezeptoren scheinen die gemeinsame Endstrecke der Fieberentstehung durch endogene und exogene Pyrogene zu sein (Dinarello 2004). Das komplexe Phänomen Fieber ist jedoch in vielen Details noch Gegenstand der Forschung (Conti et al. 2004, Dalal et al. 2006).

5 Zusammenfassung

Jüngere Kinder waren im Vergleich zu Älteren öfter anämisch und erkrankten häufiger symptomatisch an Malaria, obwohl die Prävalenz der Parasitämie bei älteren Kindern nicht geringer war. *Plasmodium falciparum* verursachte in der Ashanti-Region in Ghana die meisten Malaria-Infektionen und war in 97,9% der positiven Präparate nachweisbar. Nur bei etwa 10% der Kinder, bei denen mikroskopisch Parasiten im Blut nachweisbar waren, war die Malaria symptomatisch. Mit zunehmendem Lebensalter sank der Anteil der Kinder, die Krankheitszeichen entwickelten. Die Prävalenz der Anämie lag in allen Altersgruppen unter 30% und ist nicht repräsentativ für die allgemeine kindliche Bevölkerung in Ghana, da eine Eisensubstitution sowie eine anthelmintische Therapie mit Albendazol vor Studienbeginn durchgeführt wurden und die Kinder wöchentlich von einem Arzt untersucht und gegebenenfalls behandelt wurden.

Bei jüngeren Kindern ist der Zusammenhang zwischen der quantitativen Parasitämie der Vorwoche und dem Hämatokrit deutlich stärker ausgeprägt ($r^2=0,155$, $p<0,0001$) als der Zusammenhang zwischen der simultanen Parasitendichte und dem Hämatokrit ($r^2=0,088$, $p<0,0001$). Der zeitgleichen Parasitendichte in den Korrelationsergebnissen ebenfalls überlegen ist die mediane Parasitendichte der vergangenen zwei Wochen ($r^2=0,149$, $p<0,0001$). Dies spricht für einen verzögerten und kumulativen Effekt der quantitativen Parasitämie hinsichtlich der Entwicklung einer Anämie.

Nahezu omnipräsent lag eine Milzvergrößerung vor. Bereits in der unteren Quartile der Verteilung der Milzvolumina waren die Milzen um mehr als den Faktor zwei gegenüber dem Sollvolumen vergrößert. Das Ausmaß der Anämie korrelierte jedoch nicht mit der Splenomegalie.

Die Anzahl der individuellen Fieberepisoden korreliert bei jüngeren Kindern mit dem medianen Hämatokrit ($r^2=0,18$, $p<0,0001$). Bei unkomplizierter Malaria in einem Endemiegebiet scheint der Verlust von nicht infizierten Erythrozyten im Rahmen einer unspezifischen Entzündungsreaktion daher eine bedeutende Rolle bei der Entwicklung der Anämie zu spielen. Der Beitrag von ineffektiver Erythropoese und dem Verlust von infizierten Erythrozyten erscheint vergleichsweise gering.

6 Literaturverzeichnis

Abdalla SH, Kasili FG, Weatherall DJ (1983). The coombs direct antiglobulin test in Kenyans. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 77(1):99-102.

Akanmori BD, Kurtzhals JA, Goka BQ, Adabayeri V, Ofori MF, Nkrumah FK, Behr C, Hviid L (2000). Distinct patterns of cytokine regulation in discrete clinical forms of *Plasmodium falciparum* malaria. *Eur Cytokine Netw.* 11(1):113-8.

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):2037-40.

Arese P, Schwarzer E (1997). Malarial pigment (haemozoin): a very active 'inert' substance. *Ann Trop Med Parasitol.* 91(5):501-16.

Bratosin D, Mazurier J, Tissier JP, Estaquier J, Huart JJ, Ameisen JC, Aminoff D, Montreuil J (1998). Cellular and molecular mechanisms of senescent erythrocyte phagocytosis by macrophages. *Biochimie.* 80(2):173-95.

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

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):103-9.

Burk M, Schneider W (1999). Anämien. In: *Thiemes Innere Medizin – TIM.* 1.Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S.827-850.

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):525-37.

Carney CK, Schrimpe AC, Halfpenny K, Harry RS, Miller CM, Broncel M, Sewell SL, Schaff JE, Deol R, Carter MD, Wright DW (2006). The basis of the immunomodulatory activity of malaria pigment (hemozoin). *J Biol Inorg Chem.* [Epub ahead of print]

Clark IA, Chaudhri G (1988). Tumour necrosis factor may contribute to the anaemia of malaria by causing dyserythropoiesis and erythrophagocytosis. *Br J Haematol.* 70(1):99-103.

Conti B, Tabarean I, Andrei C, Bartfai T (2004). Cytokines and fever. *Front Biosci.* 9:1433-49.

Dalal S, Zhukovsky DS. Pathophysiology and management of fever (2006). *J Support Oncol.* 4(1):9-16.

Das BS, Nanda NK, Rath PK, Satapathy RN, Das DB (1999). Anaemia in acute, Plasmodium falciparum malaria in children from Orissa state, India. *Ann Trop Med Parasitol.* 93(2):109-18.

Day NP, Hien TT, Schollaardt T, Loc PP, Chuong LV, Chau TT, Mai NT, Phu NH, Sinh DX, White NJ, Ho M (1999). The prognostic and pathophysiologic role of pro- and antiinflammatory cytokines in severe malaria. *J Infect Dis.* 180(4):1288-97.

Delley V, Bouvier P, Breslow N, Doumbo O, Sagara I, Diakite M, Mauris A, Dolo A, Rougemont A (2000). What does a single determination of malaria parasite density mean? A longitudinal survey in Mali. *Trop Med Int Health.* 5(6):404-12.

Dinarello CA (2004). Infection, fever, and exogenous and endogenous pyrogens: some concepts have changed. *J Endotoxin Res.* 10(4):201-22.

- Dittrich M, Milde S, Dinkel E, Baumann W, Weitzel D (1983).** Sonographic biometry of liver and spleen size in childhood. *Pediatr Radiol.* 13(4):206-11.
- Dondorp AM, Angus BJ, Chotivanich K, Silamut K, Ruangveerayuth R, Harde-
man 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):733-7.
- Dondorp AM, Desakorn V, Pongtavornpinyo W, Sahassananda D, Silamut K,
Chotivanich K, Newton PN, Pitisuttithum P, Smithyman AM, White NJ, Day NP
(2005).** Estimation of the total parasite biomass in acute falciparum malaria from plasma PfHRP2. *PLoS Med.* 2(8):e204.
- Dormer P, Dietrich M, Kern P, Horstmann RD (1983).** Ineffective erythropoiesis in acute human *P. falciparum* malaria. *Blut.* 46(5):279-88.
- Ekvall H (2003).** Malaria and anemia. *Curr Opin Hematol.* 10(2):108-14.
- Ekvall H, Premji Z, Bjorkman A (2000).** Micronutrient and iron supplementation and effective antimalarial treatment synergistically improve childhood anaemia. *Trop Med Int Health.* 5(10):696-705.
- Ekvall H, Premji Z, Bennett S, Bjorkman A (2001).** Hemoglobin concentration in children in a malaria holoendemic area is determined by cumulated *Plasmodium falciparum* parasite densities. *Am J Trop Med Hyg.* 64(1-2):58-66.
- Evans JA, Adusei A, Timmann C, May J, Mack D, Agbenyega T, Horstmann RD,
Frimpong E (2004).** High mortality of infant bacteraemia clinically indistinguishable from severe malaria. *QJM.* 97(9):591-7.
- Facer CA (1980).** Direct Coombs antiglobulin reactions in Gambian children with *Plasmodium falciparum* malaria. II. Specificity of erythrocyte-bound IgG. *Clin Exp Immunol.* 39(2):279-88.
- Facer CA, Bray RS, Brown J (1979).** Direct Coombs antiglobulin reactions in Gambian children with *Plasmodium falciparum* malaria. I. Incidence and class specificity. *Clin Exp Immunol.* 35(1):119-27.

Gielchinsky Y, Elstein D, Hadas-Halpern I, Lahad A, Abrahamov A, Zimran A (1999). Is there a correlation between degree of splenomegaly, symptoms and hypersplenism? A study of 218 patients with Gaucher disease. *British Journal of Haematology* 106, 812-816.

Goka BQ, Kwarko H, Kurtzhals JA, Gyan B, Ofori-Adjei E, Ohene SA, Hviid L, Akanmori BD, Neequaye J (2001). Complement binding to erythrocytes is associated with macrophage activation and reduced haemoglobin in *Plasmodium falciparum* malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 95(5):545-9.

Greve B, Kreamsner PG, Lell B, Luckner D, Schmid D (2000). Malarial anaemia in African children associated with high oxygen-radical production. *Lancet.* 355(9197):40-41.

Greve B, Lehman LG, Lell B, Luckner D, Schmidt-Ott R, Kreamsner PG (1999). High oxygen radical production is associated with fast parasite clearance in children with *Plasmodium falciparum* malaria. *J Infect Dis.* 179(6):1584-6.

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):486-91.

Groux H, Gysin J (1990). Opsonization as an effector mechanism in human protection against asexual blood stages of *Plasmodium falciparum*: functional role of IgG subclasses. *Res Immunol.* 141(6):529-42.

Gupta R, Singh T (2005). Parvovirus B19 co-infection with *falciparum* malaria: a cause of severe anemia. *Haematologica.* 90(12 Suppl):ECR41.

Hall A, Bobrow E, Brooker S, Jukes M, Nokes K, Lambo J, Guyatt H, Bundy D, Adjei S, Wen ST, Satoto, Subagio H, Rafiluddin MZ, Miguel T, Moulin S, de Graft Johnson J, Mukaka M, Roschnik N, Sacko M, Zacher A, Mahumane B, Kihamia C, Mwanri L, Tatala S, Lwambo N, Siza J, Khanh LN, Khoi HH, Toan ND (2001). Anaemia in schoolchildren in eight countries in Africa and Asia. *Public Health Nutr.* 4(3):749-56.

Holding PA, Snow RW (2001). Impact of Plasmodium falciparum malaria on performance and learning: review of the evidence. *Am J Trop Med Hyg* 64:68

Idro R, Aloyo J, Mayende L, Bitarakwate E, John CC, Kivumbi GW (2006). Severe malaria in children in areas with low, moderate and high transmission intensity in Uganda. *Trop Med Int Health*. 11(1):115-24.

Igbokwe IO, Nwosu CO (1997). Lack of correlation of anaemia with splenomegaly and hepatomegaly in Trypanosoma brucei and Trypanosoma congolense infections of rats. *J Comp Pathol*. 117(3):261-5.

Jakeman GN, Saul A, Hogarth WL, Collins WE (1999). Anaemia of acute malaria infections in non-immune patients primarily results from destruction of uninfected erythrocytes. *Parasitology*. 119 (Pt 2):127-33.

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):325-33.

Klinkenberg E, McCall PJ, Wilson MD, Akoto AO, Amerasinghe FP, Bates I, Verhoeff FH, Barnish G, Donnelly MJ (2006). Urban malaria and anaemia in children: a cross-sectional survey in two cities of Ghana. *Trop Med Int Health*. 11(5):578-88.

Kun JF, Mordmuller B, Perkins DJ, May J, Mercereau-Puijalon O, Alpers M, Weinberg JB, Kremsner PG (2001). Nitric oxide synthase 2(Lambarene) (G-954C), increased nitric oxide production, and protection against malaria. *J Infect Dis*. 184(3):330-6.

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):169-74.

Kwiatkowski D (2000). Genetic susceptibility to malaria getting complex. *Curr Opin Genet Dev*. 10(3):320-4.

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

Lusingu JP, Vestergaard LS, Mmbando BP, Drakeley CJ, Jones C, Akida J, Savaeli ZX, Kitua AY, Lemnge MM, Theander TG (2004). Malaria morbidity and immunity among residents of villages with different Plasmodium falciparum transmission intensity in North-Eastern Tanzania. *Malar J.* 28;3:26.

Martiney JA, Sherry B, Metz CN, Espinoza M, Ferrer AS, Calandra T, Broxmeyer HE, Bucala R (2000). Macrophage migration inhibitory factor release by macrophages after ingestion of Plasmodium chabaudi-infected erythrocytes: possible role in the pathogenesis of malarial anemia. *Infect Immun.* 68(4):2259-67.

May J, Falusi AG, Mockenhaupt FP, Ademowo OG, Olumese PE, Bienzle U, Meyer CG (2000). Impact of subpatent multi-species and multi-clonal plasmodial infections on anaemia in children from Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 94(4):399-403.

McGilvray ID, Serghides L, Kapus A, Rotstein OD, Kain KC (2000). Nonopsonic monocyte/macrophage phagocytosis of Plasmodium falciparum-parasitized erythrocytes: a role for CD36 in malarial clearance. *Blood.* 96(9):3231-40.

McGuire W, Knight JC, Hill AV, Allsopp CE, Greenwood BM, Kwiatkowski D (1999). Severe malarial anemia and cerebral malaria are associated with different tumor necrosis factor promoter alleles. *J Infect Dis.* 179(1):287-90.

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):844-50.

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

Miller LH, Baruch DI, Marsh K, Doumbo OK (2002). The pathogenic basis of malaria. *Nature*. 415(6872):673-9.

Miller LH, Mason SJ, Clyde DF, McGinniss MH (1976). The resistance factor to *Plasmodium vivax* in blacks. The Duffy-blood-group genotype, FyFy. *N Engl J Med*. 295(6):302-4.

Newton CR, Krishna S (1998). Severe falciparum malaria in children: current understanding of pathophysiology and supportive treatment. *Pharmacol Ther* 79:1.

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):165-78.

Nkuo-Akenji TK, Ajame EA, Achidi EA (2002). An investigation of symptomatic malaria parasitaemia and anaemia in nursery and primary school children in Buea District Cameroon. *Cent Afr J Med*. 48(1-2):1-4.

Premji Z, Hamisi Y, Shiff C, Minjas J, Lubega P, Makwaya C (1995). Anaemia and *Plasmodium falciparum* infections among young children in an holoendemic area, Bagamoyo, Tanzania. *Acta Trop*. 59(1):55-64.

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):614-22.

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

Ross R (1897). On some peculiar pigmented cells found in two mosquitoes fed on malarial blood. *Brit Med J* 2:1786-88

Schellenberg D, Schellenberg JR, Mushi A, Savigny D, Mgalula L, Mbuya C, Victora CG (2003). The silent burden of anaemia in Tanzanian children: a community-based study. *Bull World Health Organ*. 81(8):581-90.

Scholander C, Carlson J, Kremsner PG, Wahlgren M (1998). Extensive immunoglobulin binding of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes in a group of children with moderate anemia. *Infect Immun* 66(1):361-3.

Schwarzer E, Turrini F, Ulliers D, Giribaldi G, Ginsburg H, Arese P (1992). Impairment of macrophage functions after ingestion of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes or isolated malarial pigment. *J Exp Med.* 176(4):1033-41.

Shah SH, Hayes PC, Allan PL, Nicoll J, Finlayson ND (1996). Measurement of spleen size and its relation to hypersplenism and portal hemodynamics in portal hypertension due to hepatic cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 91 (12): 2580-3.

Snow RW, Craig M, Deichmann U, Marsh K (1999). Estimating mortality, morbidity and disability due to malaria among Africa's non-pregnant population. *Bull World Health Organ* 77(8):624-40

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

Toghill PJ, Green S (1972). The influence of spleen size on the distribution of red cells and plasma. *J Clin Pathol.* 25(7):570-3.

Trape JF (2001). The public health impact of chloroquine resistance in Africa. *Am J Trop Med Hyg.* 64(1-2 Suppl):12-7.

Waitumbi JN, Opollo MO, Muga RO, Misore AO, Stoute JA (2000). Red cell surface changes and erythrophagocytosis in children with severe plasmodium falciparum anemia. *Blood.* 95(4):1481-6.

Weatherall DJ, Miller LH, Baruch DI, Marsh K, Doumbo OK, Casals-Pascual C, Roberts DJ (2002). Malaria and the Red Cell. *American Society of Hematology Educ Program* 35-57.

White NJ. (2003). Malaria. In: Cook GC, Zumla AI, eds. *Manson's tropical diseases.* 21st ed. London: Saunders. 1205-1295.

World Health Organization (2001). Iron deficiency anaemia: assessment, prevention and control. A guide for programme managers. Document: WHO/NHD/01.3.

Wickramasinghe SN, Abdalla SH (2000). Blood and bone marrow changes in malaria. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol.* 13(2):277-99.

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):276-7.

Zhang B, Lewis SM (1989). The splenomegaly of myeloproliferative disorders: effects on blood volume and red blood count. *Eur J Haematol.* 42(3):250-3.

7 Anhang

7.1 Abbildungen und Tabellen

7.1.1 Abbildungen

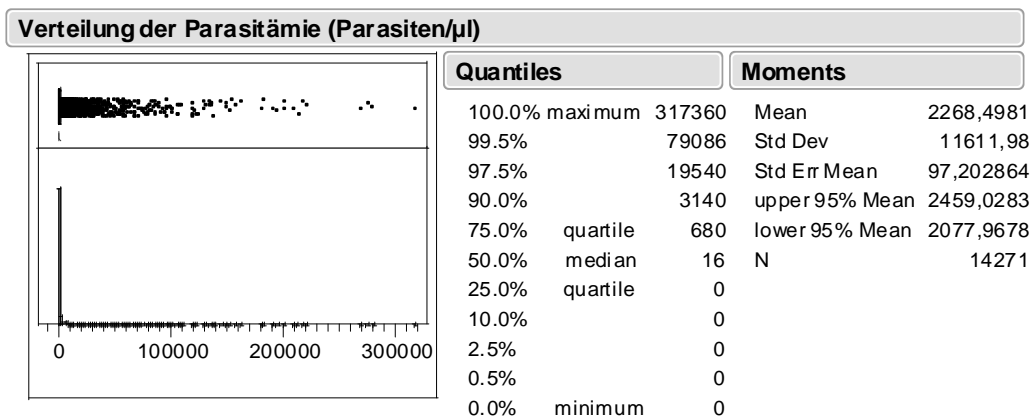


Abbildung 19. Verteilung der Parasitämie-Werte.

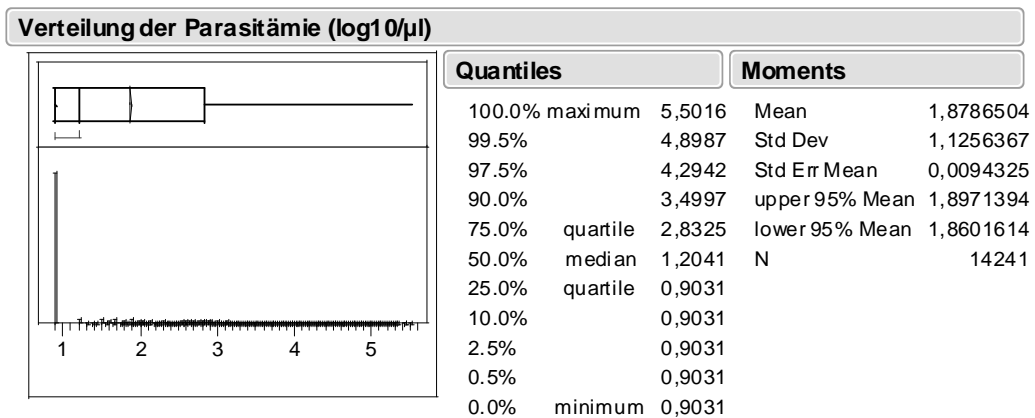


Abbildung 20. Verteilung der logarithmierten Parasitämie-Werte

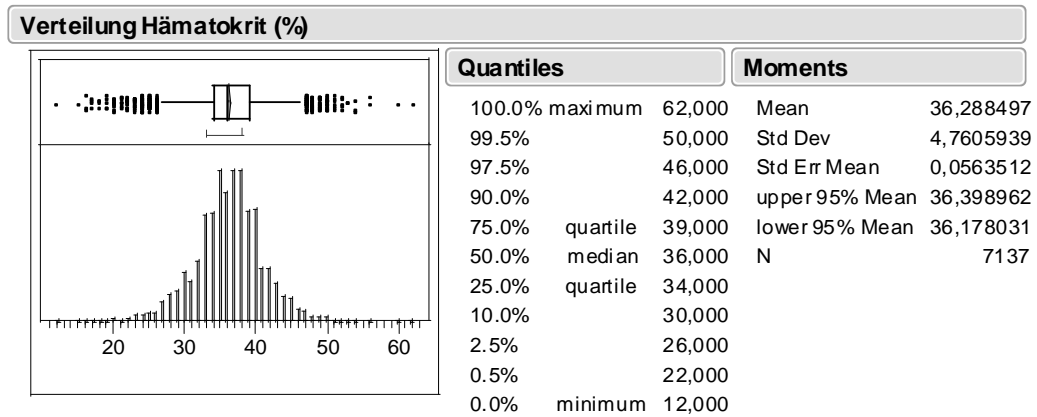


Abbildung 21. Verteilung der Hämatokrit-Werte.

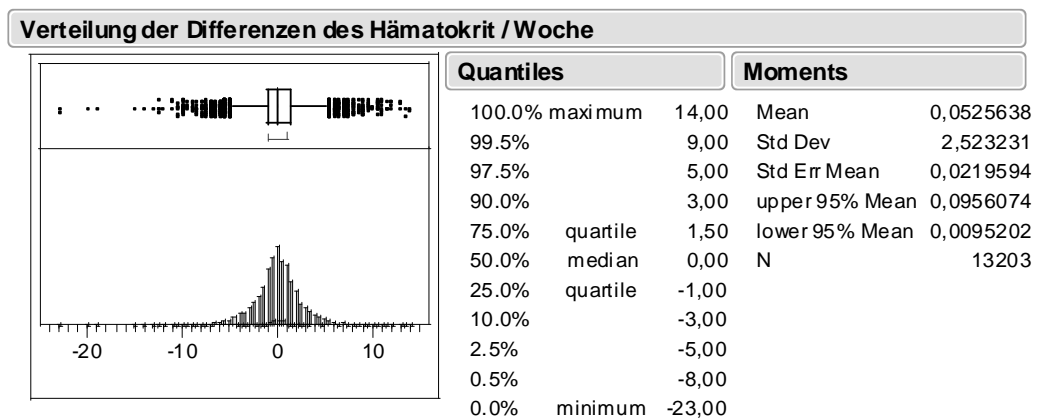
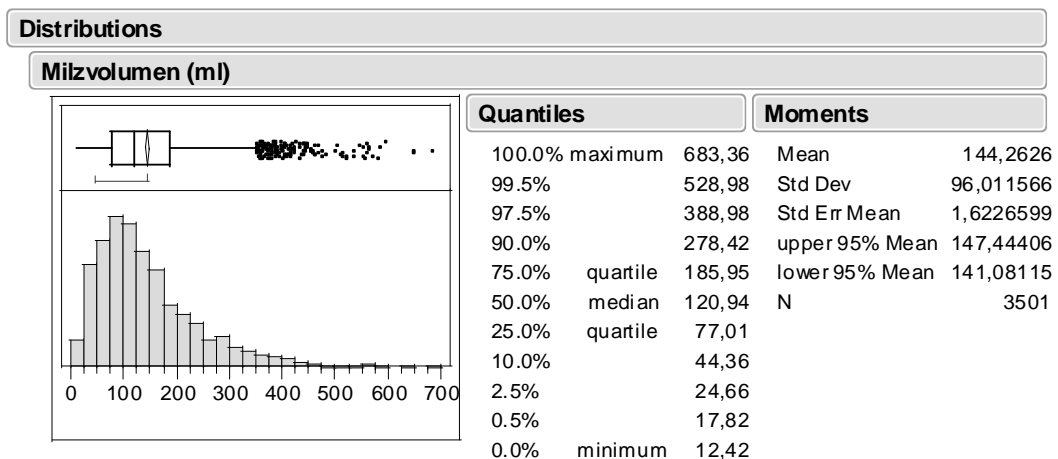
Abbildung 22. Verteilung von Δ Hämatokrit/Woche

Abbildung 23. Verteilung der Milzvolumina.

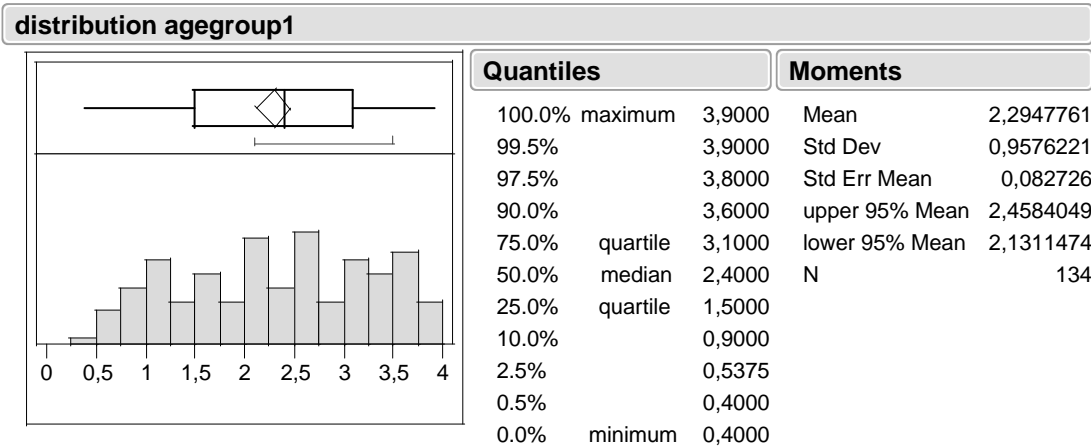


Abbildung 24. Altersverteilung in Altersgruppe 1.

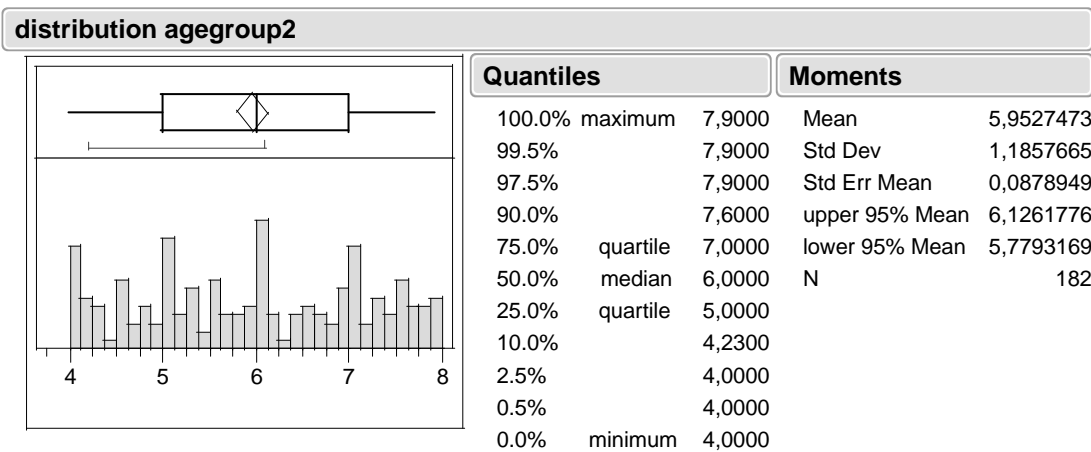


Abbildung 25. Altersverteilung in Altersgruppe 2.

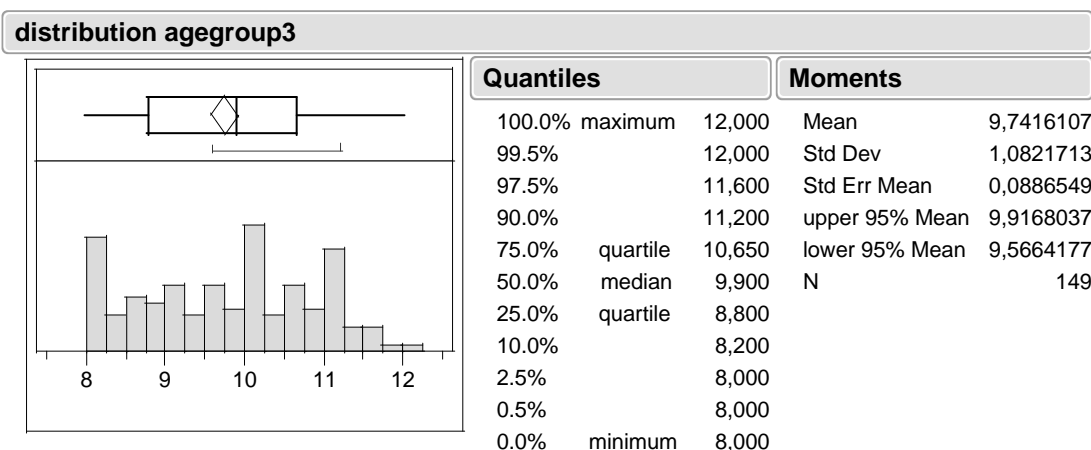


Abbildung 26. Altersverteilung in Altersgruppe 3.

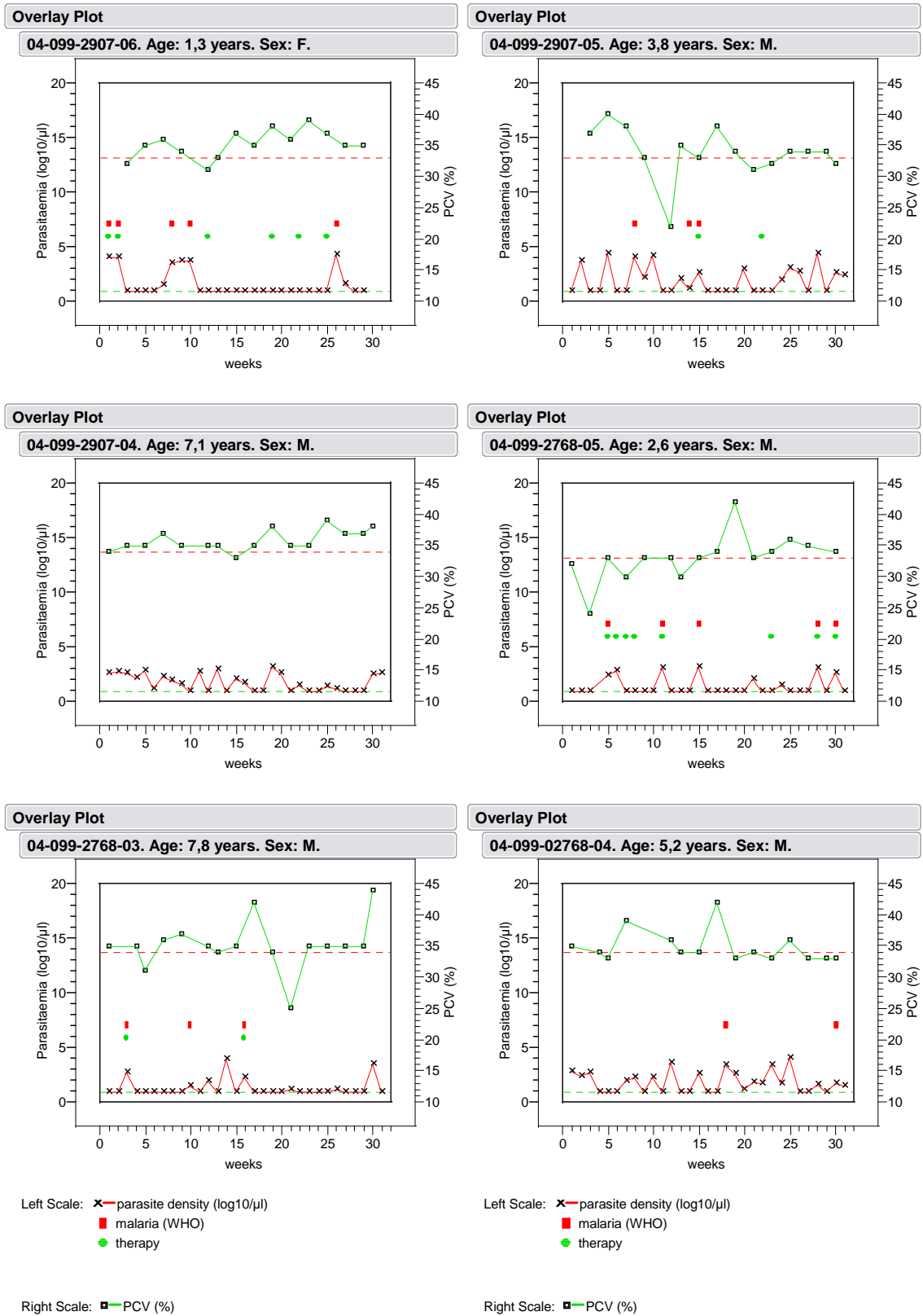


Abbildung 27. Beispiele (6) für individuelle Verläufe.

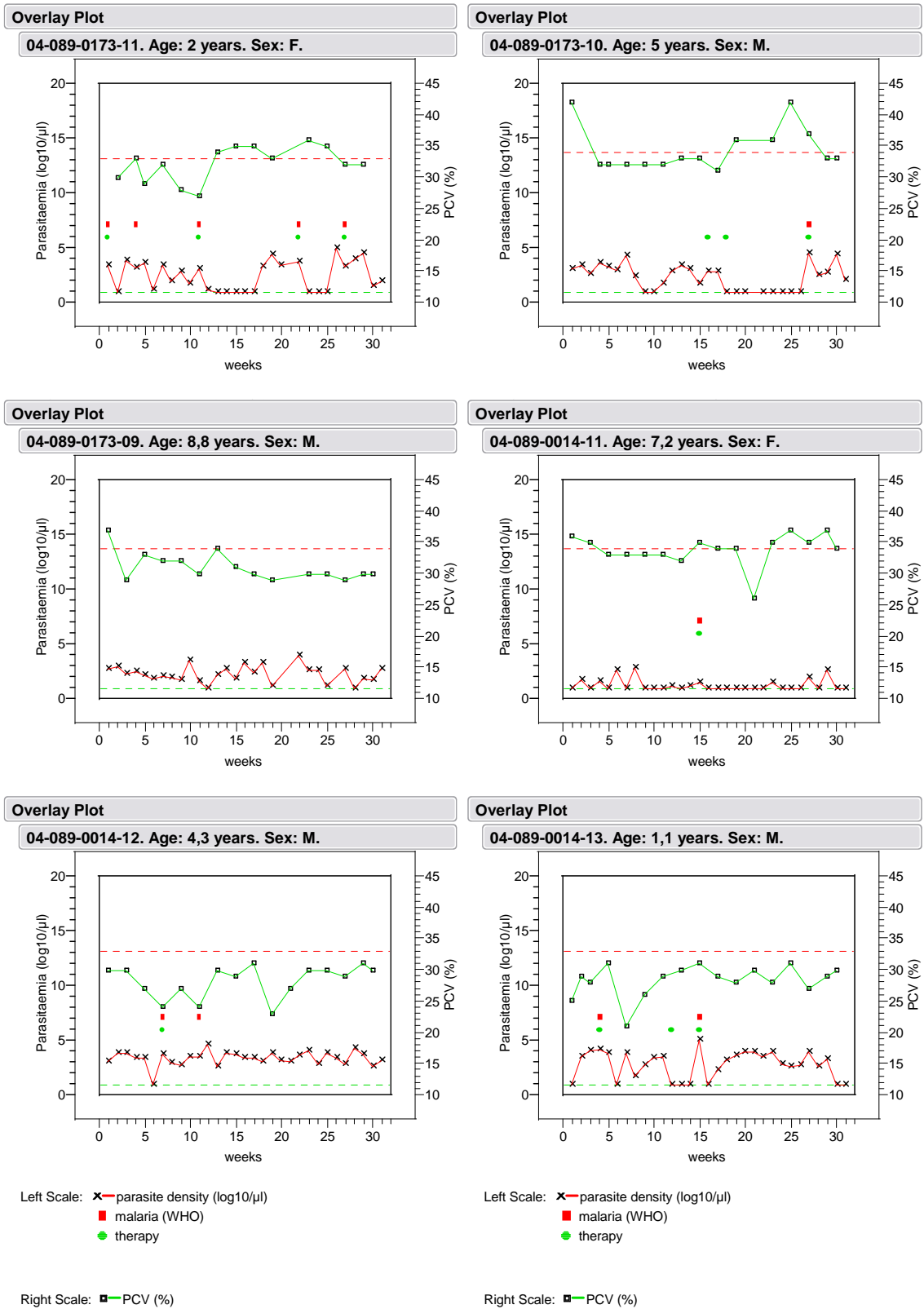


Abbildung 28. Beispiele (7) für individuelle Verläufe.

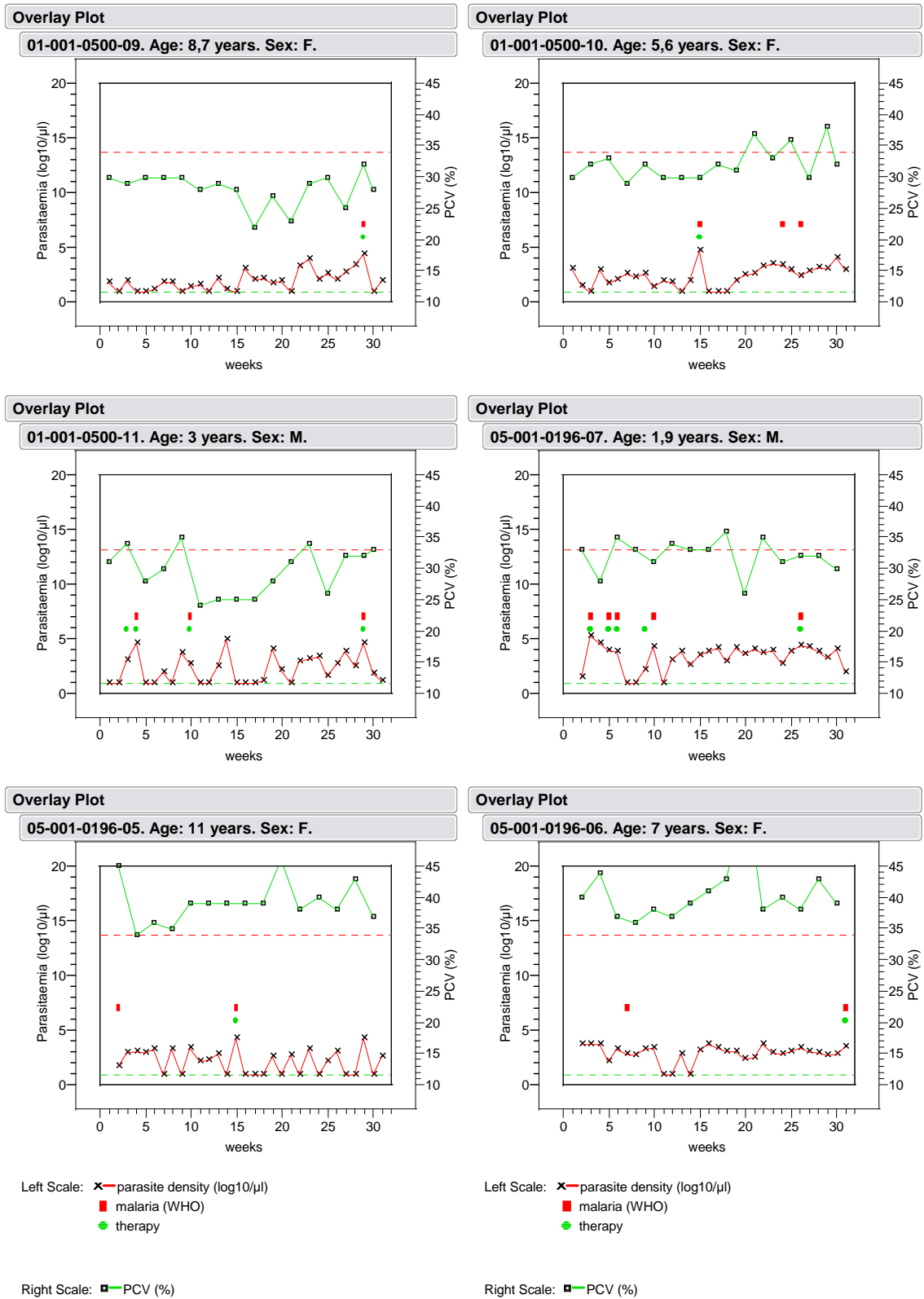


Abbildung 29. Beispiele (8) für individuelle Verläufe.

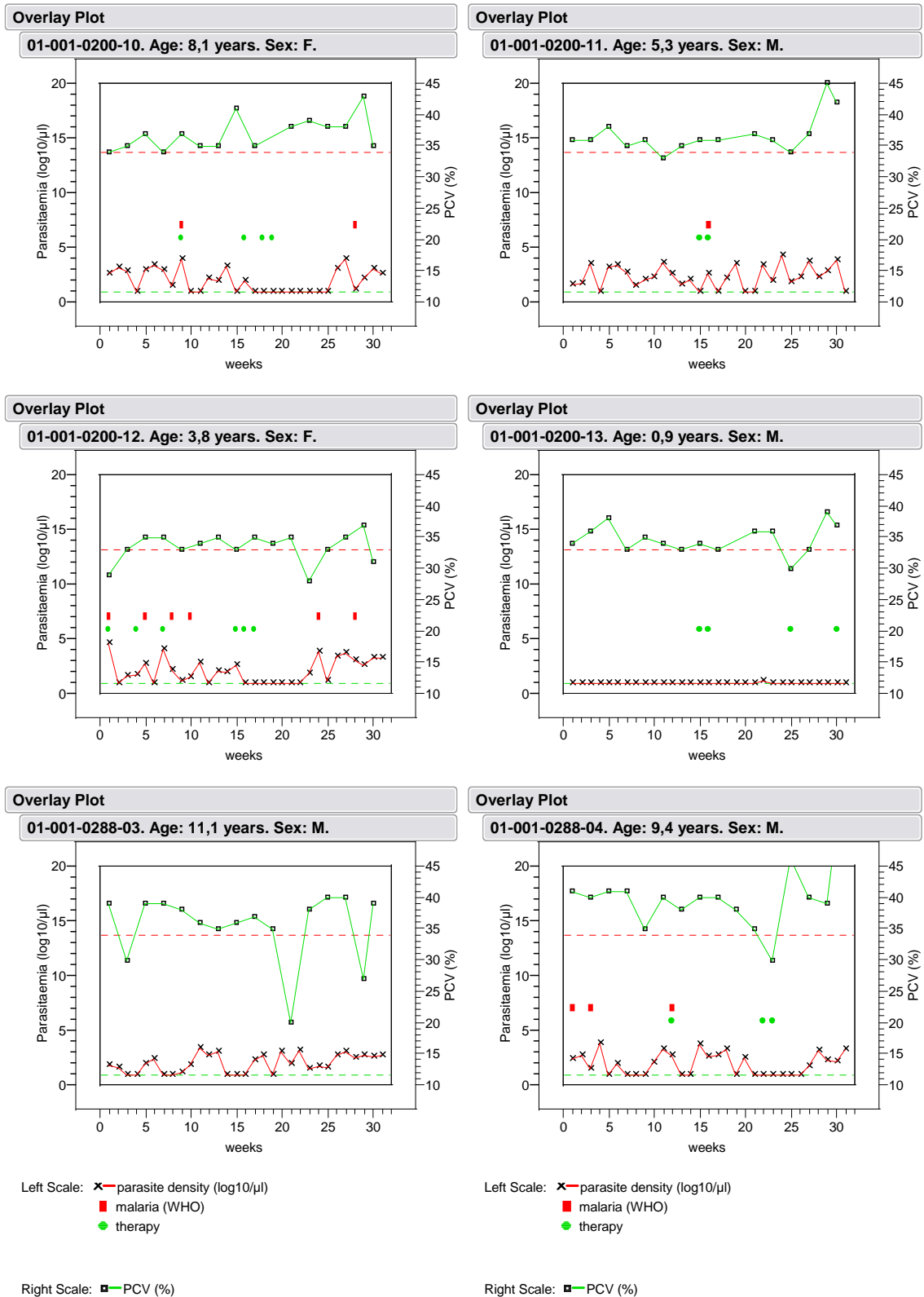


Abbildung 30. Beispiele (9) für individuelle Verläufe.

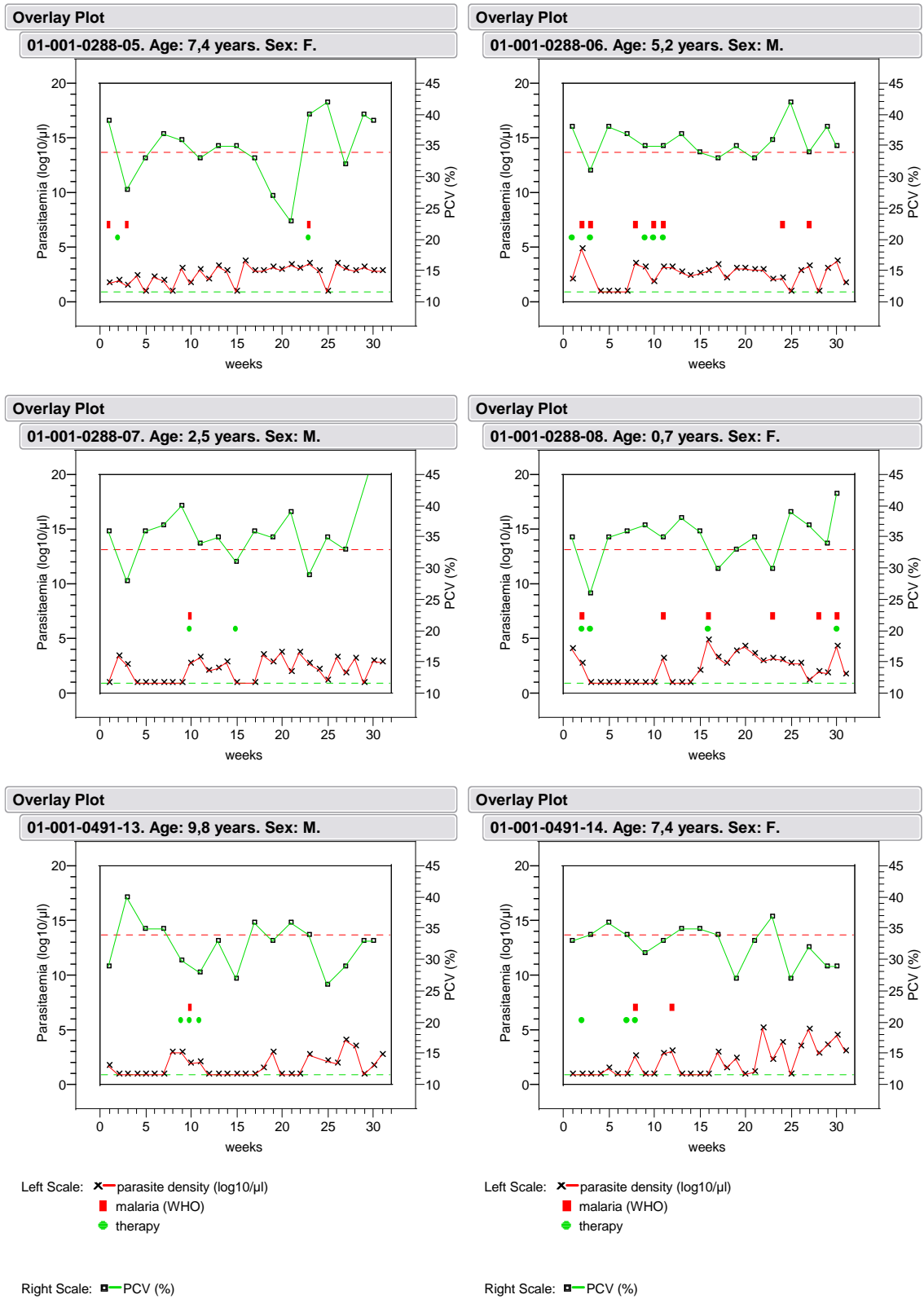


Abbildung 31. Beispiele (10) für individuelle Verläufe.

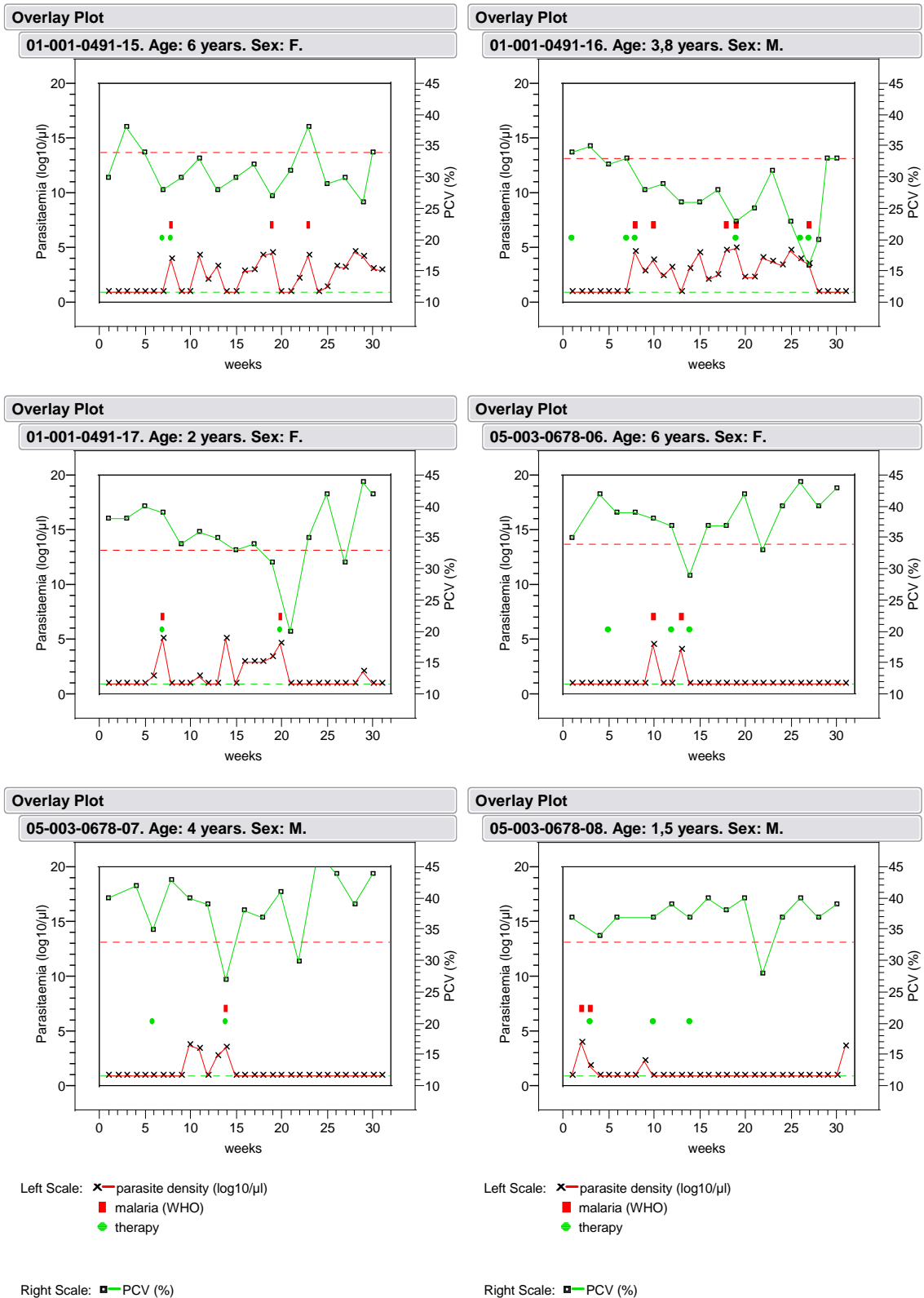


Abbildung 32. Beispiele (11) für individuelle Verläufe.

Tabelle 13. Inzidenz symptomatischer Malaria-Episoden im Studienzeitraum.

Gesamtgruppe (n=465)			Altersgruppe1 (n=134)			Altersgruppe2 (n=182)			Altersgruppe3 (n=149)		
n (M)	n	I (M)	n (M)	n	I (M)	n (M)	n	I (M)	n (M)	n	I (M)
0	174	37,4%	0	30	22,4%	0	63	34,6%	0	81	54,4%
≥ 1	291	62,6%	≥ 1	104	77,6%	≥ 1	119	65,4%	≥ 1	68	45,6%
1	120	25,8%	1	19	14,2%	1	54	29,7%	1	47	31,5%
2	69	14,8%	2	20	14,9%	2	32	17,6%	2	17	11,4%
3	48	10,3%	3	23	17,2%	3	21	11,5%	3	4	2,7%
4	21	4,5%	4	16	11,9%	4	5	2,7%			
5	11	2,4%	5	10	7,5%	5	1	0,5%			
6	9	1,9%	6	5	3,7%	6	4	2,2%			
7	7	1,5%	7	5	3,7%	7	2	1,1%			
8	3	0,6%	8	3	2,2%						
9	9	0,2%	9	1	0,7%						
11	1	0,2%	11	1	0,7%						
12	1	0,2%	12	1	0,7%						

Tabelle 14. Inzidenz der Parasitämie im Studienzeitraum.

Gesamtgruppe (n=465)			Altersgruppe1 (n=134)			Altersgruppe2 (n=182)			Altersgruppe3 (n=149)		
n (P)	n	I (P)	n (P)	n	I (P)	n (A)	n	I (P)	n (A)	n	I (P)
0	9	1,9%	0	4	3,0%	0	3	1,6%	0	2	1,3%
≥ 1	456	98,1%	≥ 1	130	97,0%	≥ 1	179	98,4%	≥ 1	147	98,7%
1	25	5,4%	1	10	7,5%	1	8	4,4%	1	7	4,7%
2	14	3,0%	2	5	3,7%	2	7	3,8%	2	2	1,3%
3	11	2,4%	3	4	3,0%	3	3	1,6%	3	4	2,7%
4	11	2,4%	4	5	3,7%	4	4	2,2%	4	2	1,3%
5	9	1,9%	5	3	2,2%	5	4	2,2%	5	2	1,3%
6	9	1,9%	6	5	3,7%	6	2	1,1%	6	2	1,3%
7	7	1,5%	7	1	0,7%	7	3	1,6%	7	3	2,0%
8	16	3,4%	8	4	3,0%	8	4	2,2%	8	8	5,4%
9	5	1,7%	9	2	1,5%	9	1	0,6%	9	2	1,3%
10	16	3,4%	10	4	3,0%	10	6	3,3%	10	6	4,0%
11	8	1,7%	11	3	2,2%	11	1	0,6%	11	4	2,7%
12	16	3,4%	12	4	3,0%	12	7	3,8%	12	5	3,4%
13	14	3,0%	13	6	4,5%				13	8	5,4%
14	15	3,2%				14	9	5,0%	14	6	4,0%
15	20	4,3%	15	7	5,2%	15	6	3,3%	15	7	4,7%
16	19	4,1%	16	3	2,2%	16	10	5,5%	16	6	4,0%
17	19	4,1%	17	4	3,0%	17	7	3,8%	17	8	5,4%
18	18	3,9%	18	7	5,2%	18	5	2,7%	18	6	4,0%
19	19	4,1%	19	4	3,0%	19	6	3,3%	19	9	6,0%
20	25	5,4%	20	8	6,0%	20	13	7,1%	20	4	2,7%
21	24	5,2%	21	10	7,5%	21	6	3,3%	21	8	5,4%
22	16	3,4%	22	6	4,5%	22	8	4,4%	22	2	1,3%
23	19	4,1%	23	5	3,7%	23	7	3,8%	23	7	4,7%
24	16	3,4%	24	4	3,0%	24	6	3,3%	24	6	4,0%
25	19	4,1%	25	4	3,0%	25	8	4,4%	25	7	4,7%
26	16	3,4%	26	2	1,5%	26	9	5,0%	26	5	3,4%
27	24	5,2%	27	7	5,2%	27	13	7,1%	27	4	2,7%
28	8	1,7%				28	6	3,3%	28	2	1,3%
29	9	1,9%	29	2	1,5%	29	6	3,3%	29	1	0,7%
30	7	1,5%	30	1	0,7%	30	3	1,6%	30	3	2,0%
31	2	0,4%				31	1	0,6%	31	1	0,7%

Tabelle 15. Lineare Korrelation zwischen Hämatokrit und zeitgleicher Parasitämie für die einzelnen Meißzeitpunkte (Gesamtgruppe).

Woche	n (Anzahl der korrespondierenden Werte)	r ²	p
1&2	460	0,020	0,0024
3&4	455	0,029	0,0003
5&6	450	0,013	0,0137
7&8	455	0,042	< 0,0001
9&10	461	0,045	< 0,0001
11&12	455	0,039	< 0,0001
13&14	450	0,028	0,0004
15&16	441	0,043	< 0,0001
17&18	457	0,060	< 0,0001
19&20	445	0,098	< 0,0001
21&22	452	0,049	< 0,0001
23&24	463	0,053	< 0,0001
25&26	456	0,029	0,0002
27&28	454	0,077	< 0,0001
29&30	463	0,038	< 0,0001

Tabelle 16. Lineare Korrelation zwischen Hämatokrit und zeitgleicher Parasitämie zu den einzelnen Meßzeitpunkten (Altersgruppe 1).

Woche	n (Anzahl der korrespondierenden Werte)	r ²	p
1&2	131	0,058	0,0057
3&4	131	0,094	0,0004
5&6	128	0,039	0,025
7&8	132	0,054	0,0071
9&10	134	0,168	< 0,0001
11&12	129	0,062	0,0044
13&14	131	0,048	0,0119
15&16	129	0,100	0,0003
17&18	132	0,123	< 0,0001
19&20	127	0,211	< 0,0001
21&22	130	0,104	0,0002
23&24	133	0,104	0,0002
25&26	131	0,034	0,036
27&28	129	0,141	< 0,0001
29&30	134	0,079	0,0010

Tabelle 17. Lineare Korrelation zwischen Hämatokrit und zeitgleicher Parasitämie zu den einzelnen Meßzeitpunkten (Altersgruppe 2).

Woche	n (Anzahl der korrespondierenden Werte)	r^2	p
1&2	180	0,007	0,2581
3&4	178	0,003	0,4715
5&6	179	0,017	0,0824
7&8	177	0,063	0,0007
9&10	180	0,007	0,2671
11&12	177	0,044	0,0049
13&14	177	0,034	0,0135
15&16	173	0,025	0,0389
17&18	181	0,067	0,0004
19&20	175	0,071	0,0004
21&22	177	0,060	0,0011
23&24	182	0,029	0,0224
25&26	180	0,031	0,0189
27&28	179	0,056	0,0014
29&30	181	0,032	0,0167

Tabelle 18. Lineare Korrelation zwischen Hämatokrit und zeitgleicher Parasitämie zu den einzelnen Meßzeitpunkten (Altersgruppe 3).

Woche	n (Anzahl der korrespondierenden Werte)	r^2	p
1&2	149	0,007	0,2996
3&4	146	0,024	0,0160
5&6	143	0,000	0,9084
7&8	146	0,000	0,9372
9&10	147	0,000	0,8647
11&12	149	0,012	0,1904
13&14	142	0,000	0,9191
15&16	139	0,003	0,5405
17&18	144	0,001	0,7455
19&20	143	0,022	0,0763
21&22	145	0,002	0,5916
23&24	148	0,032	0,0299
25&26	145	0,010	0,2268
27&28	146	0,017	0,1183
29&30	148	0,002	0,6223

Tabelle 19. Lineare Korrelation zwischen Hämatokrit und Parasitämie der Vorwoche für die einzelnen Meßzeitpunkte (Gesamtgruppe).

Woche	n (Anzahl der korrespondierenden Werte)	r ²	p
3&4	457	0,051	<0,0001
5&6	441	0,047	<0,0001
7&8	452	0,026	0,0005
9&10	460	0,075	<0,0001
11&12	456	0,045	<0,0001
13&14	450	0,029	0,0003
15&16	441	0,038	<0,0001
17&18	453	0,083	<0,0001
19&20	444	0,102	<0,0001
21&22	447	0,086	<0,0001
23&24	456	0,049	<0,0001
25&26	454	0,050	<0,0001
27&28	443	0,056	<0,0001
29&30	461	0,075	<0,0001

Tabelle 20. Lineare Korrelation zwischen Hämatokrit und Parasitämie der Vorwoche zu den einzelnen Meßzeitpunkten (Altersgruppe 1).

Woche	n (Anzahl der korrespondierenden Werte)	r ²	p
3&4	132	0,125	<0,0001
5&6	126	0,286	<0,0001
7&8	131	0,192	<0,0001
9&10	133	0,205	<0,0001
11&12	131	0,116	<0,0001
13&14	131	0,056	0,0064
15&16	129	0,240	<0,0001
17&18	130	0,133	<0,0001
19&20	127	0,293	<0,0001
21&22	127	0,165	<0,0001
23&24	131	0,132	<0,0001
25&26	130	0,080	0,0011
27&28	125	0,183	<0,0001
29&30	131	0,115	<0,0001

Tabelle 21. Lineare Korrelation zwischen Hämatokrit und Parasitämie der Vorwoche zu den einzelnen Meßzeitpunkten (Altersgruppe 2).

Woche	n (Anzahl der korrespondierenden Werte)	r ²	p
3&4	178	0,033	0,0160
5&6	178	0,038	0,0093
7&8	176	0,005	0,3691
9&10	179	0,039	0,0078
11&12	177	0,029	0,0224
13&14	177	0,072	0,0003
15&16	171	0,002	0,5675
17&18	181	0,118	<0,0001
19&20	175	0,043	0,0057
21&22	175	0,059	0,0012
23&24	179	0,019	0,0662
25&26	181	0,052	0,0018
27&28	176	0,035	0,0129
29&30	181	0,129	<0,0001

Tabelle 22. Lineare Korrelation zwischen Hämatokrit und Parasitämie der Vorwoche zu den einzelnen Meßzeitpunkten (Altersgruppe 3).

Woche	n (Anzahl der korrespondierenden Werte)	r ²	p
3&4	147	0,010	0,2262
5&6	137	0,007	0,3167
7&8	145	0,003	0,4904
9&10	148	0,001	0,7766
11&12	148	0,002	0,5520
13&14	142	0,015	0,1479
15&16	141	0,001	0,7107
17&18	142	0,001	0,7749
19&20	142	0,019	0,1030
21&22	145	0,039	0,0172
23&24	146	0,010	0,2293
25&26	143	0,007	0,3151
27&28	142	0,007	0,9987
29&30	149	0,006	0,3620

Tabelle 23. Korrelation zwischen verschiedenen Quartilen des Hämatokrit und der Anzahl klinischer Malaria-Episoden.

Hämatokrit-Bereich	Gesamtgruppe (n= 465)		Altersgruppe 1 (n=134)		Altersgruppe 2 (n=182)		Altersgruppe 3 (n=149)	
	r ²	p	r ²	p	r ²	p	r ²	p
Median	0,180	<0,0001	0,182	<0,0001	0,145	<0,0001	0,035	0,0231
Quantile 0,40	0,215	<0,0001	0,244	<0,0001	0,148	<0,0001	0,031	0,0313
Quantile 0,30	0,226	<0,0001	0,238	<0,0001	0,158	<0,0001	0,036	0,0213
untere Quartile	0,238	<0,0001	0,247	<0,0001	0,157	<0,0001	0,034	0,0248
Quantile 0,20	0,241	<0,0001	0,253	<0,0001	0,150	<0,0001	0,033	0,0263
Quantile 0,10	0,195	<0,0001	0,190	<0,0001	0,094	<0,0001	0,026	0,0491

7.2 Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich einige Menschen erwähnen, die mich während der Anfertigung der Dissertation unterstützt haben.

Herrn Prof. Dr. med. Rolf Horstmann danke ich für die Überlassung des Themas, die Gelegenheit für Impressionen in Afrika über einen Zeitraum von neun Monaten, sowie die freundliche Unterstützung während der Auswertung der Daten und der Verfassung der Promotionsschrift.

Frau Dr. med. Jennifer Evans danke ich für die Betreuung vor Ort in Ghana, insbesondere während meiner persönlichen Malaria-Episode.

Allen Mitarbeitern der Abteilung Tropenmedizinische Grundlagenforschung im Bernhard-Nocht-Institut in Hamburg danke ich für das angenehme Arbeitsklima und die wohlwollende Behandlung meiner Person.

Meinem Mitbewohner in Agogo, Claudius Füllhase, danke ich für die kurzweilige Zeit im White House und die Freundschaft, die daraus entstanden ist. Ebenso danke ich meiner Mitdotorandin in Kumasi, Julia Lenzen, für die schöne Zeit in Ghana.

Meinen ehemaligen Kommilitonen und Freunden Martin, Johannes, Rainer und René danke ich für ihre unermüdlichen Bemühungen, mich vom Sinn des Medizinstudiums zu überzeugen.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern und Geschwistern für Rückendeckung und Vertrauen in allen Lebenslagen.

7.3 Curriculum Vitae

- Name:** Anton Spandl
- Geboren:** 27.2.1974 in Roding / Bayern
- Nationalität:** deutsch
- Familienstand:** ledig
- Familie:** Eltern: Anton Spandl, 60 J., Lehrer, Theresia Spandl, 55 J., Ehebe-
raterin, Geschwister: Julia Salzberger, 30 J., Lehrerin, Johanna
Spandl, 26 J., Biochemikerin, Peter Spandl, 21 J., Mechatroniker.
- Schule:** 1980-1984 Grundschule in Waldmünchen
1985-1993 Joseph-von-Fraunhofer-Gymnasium in Cham, Abitur 1993
- Zivildienst:** September 1993-November 1994 pflegerische Tätigkeit in der Klinik
des Bernhard-Nocht-Instituts für Tropenmedizin, Hamburg
- Ausbildung:** 1995-1997 Berufsausbildung zum Zimmerer in Bad Aibling
(Zimmerei Rottmüller), Gesellenprüfung 1997
- Studium:** Von WS 1998/99 bis WS 2005/06 Studium der Humanmedizin an der
medizinischen Fakultät der Universität Leipzig.
Wahlfach im praktischen Jahr: Dermatologie (Vogtland-Klinikum
Plauen, Prof. Kowalzik)
- Prüfungen: Physikum (2000)
1.Staatsexamen (2001)
2.Staatsexamen (2005)
3.Staatsexamen (04/2006)
- Auslandsaufenthalte:
- April bis Dezember 2002 Forschungsaufenthalt in Ghana für
den praktischen Teil der Promotion
 - Sommersemester 2003 Studium an der medizinischen Fakul-
tät in Danzig, Polen (ERASMUS-Austauschprogramm)
 - Dezember 2005 bis Februar 2006 Arbeit im Agogo Hospital
in Ghana im Rahmen des chirurgischen PJ-Tertials
- Kultur:** 2000-2004 Vorsitzender des Jazzclubs JazzOderNie e.V. in Leipzig.
Veranstaltung von Konzerten mit internationalen Künstlern wie
Wayne Krantz, Jochen Rückert, Keith Karlock, Matt Penman, Hayden
Chrisholm, Rudi Mahall, Carlos Bica, Nils Wogram, Frank Möbus,
Tim Lefebvre, Evan Tate, John Schröder, Kalle Kalima, Chris
Dahlgren, Hartmut Kracht, Ted Sirota, Daniel Erdmann u.a.

Seit Mai 2006 Arbeit an der Dissertation am Tropeninstitut Hamburg

7.4 Erklärung

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.