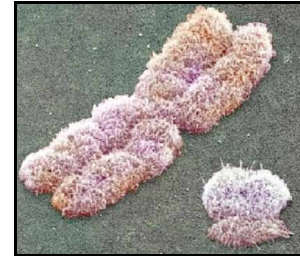


Genetische Polymorphismen – Hämoglobinvariationen und Thalassämie in endemischen Malariagebieten



Abstract

Malaria, schon seit tausenden von Jahren ein ständiger Begleiter der Menschheit, bleibt trotz intensiver Bekämpfung durch Medikamente und Einsetzung von Insektiziden besonders für die Entwicklungsländer ein grosses Problem. Unter dem starken selektiven Druck der Krankheit entwickelten sich in endemischen Malariagebieten diverse genetische Polymorphismen, die Betroffenen einen Schutz gegenüber Malaria bieten. Die Hämoglobinvariationen und die Thalassämie sind zwei der bekanntesten. Sie sind zusammen mit weiteren Polymorphismen seit den 50er Jahren Gegenstand diverser Studien. Die Untersuchungen über Verbreitung, Häufigkeit und Schutzwirkung lieferten nebenbei neue Erkenntnisse und Daten über Malaria, die besonders auch für die Forschung nach einem effektiven Impfstoff und neuen Medikamenten von Interesse sind.

Einleitung

Weltweit sind viele Millionen Menschen von Malaria betroffen und jährlich sterben bis zu 2.7 Millionen daran. Besonders in den ärmeren Gegenden der Erde stellt die Krankheit ein noch immer grosses Problem dar. In Afrika alleine stirbt beispielsweise alle 30 Sekunden ein Kind daran.

Malaria wird durch parasitische Protozoen der Gattung *Plasmodium* hervorgerufen. Davon sind vier Arten für den Menschen gefährlich: *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* und *P. falciparum*. Alle vier haben verschiedene Erscheinungsformen unter dem Mikroskop und verursachen Infektionen von unterschiedlichem Verlauf und Schweregrad. *Plasmodium falciparum* bewirkt die gefährlichste und schlimmste Art, die Malaria tropicana. Die Plasmodien haben einen komplexen Lebenszyklus, der sich zum einen Teil in der Anopheles Mücke, zum anderen Teil im Menschen vollzieht. Durch den Stich einer infizierten Anopheles-Mücke werden mit deren Speichel die Sporoziten in den menschlichen Körper

übertragen. Der Erreger wandert entlang der Blutbahnen in die Leber, wo er sich asexuell vermehrt und sich zu einem so genannten Schizonten entwickelt. Dieser teilt sich in kleinere Zellen, die Merozoiten, die sich nach dem Platzen der Zelle in den roten Blutkörperchen einnisten. Dort wiederholt sich der Vermehrungszyklus aus Invasion, Merozoiten-Bildung und Zelllyse mehrere Male. Während dieser Phasen treten die typischen Malariasymptome wie Fieber, Krämpfe und Schwitzen auf. Die Abstände zwischen den Wiederholungen des Zyklus in den Erythrozyten sind je nach Art des Erregers unterschiedlich, erfolgen jedoch meist regelmässig.

Die Krankheit ist vor allem in den wärmeren Gegenden der Erde verbreitet, da die Plasmodien eine gewisse Kälteempfindlichkeit aufweisen. Malaria ist endemisch in Afrika, in gewissen asiatischen Gebieten, in Zentral und Südamerika sowie in Ozeanien. Doch durch den regen Reisetourismus und dadurch eingeschleppte, infizierte Anopheles-Mücken, sind regelmässig auch Ausbrüche in unseren Breitengraden zu verzeichnen.

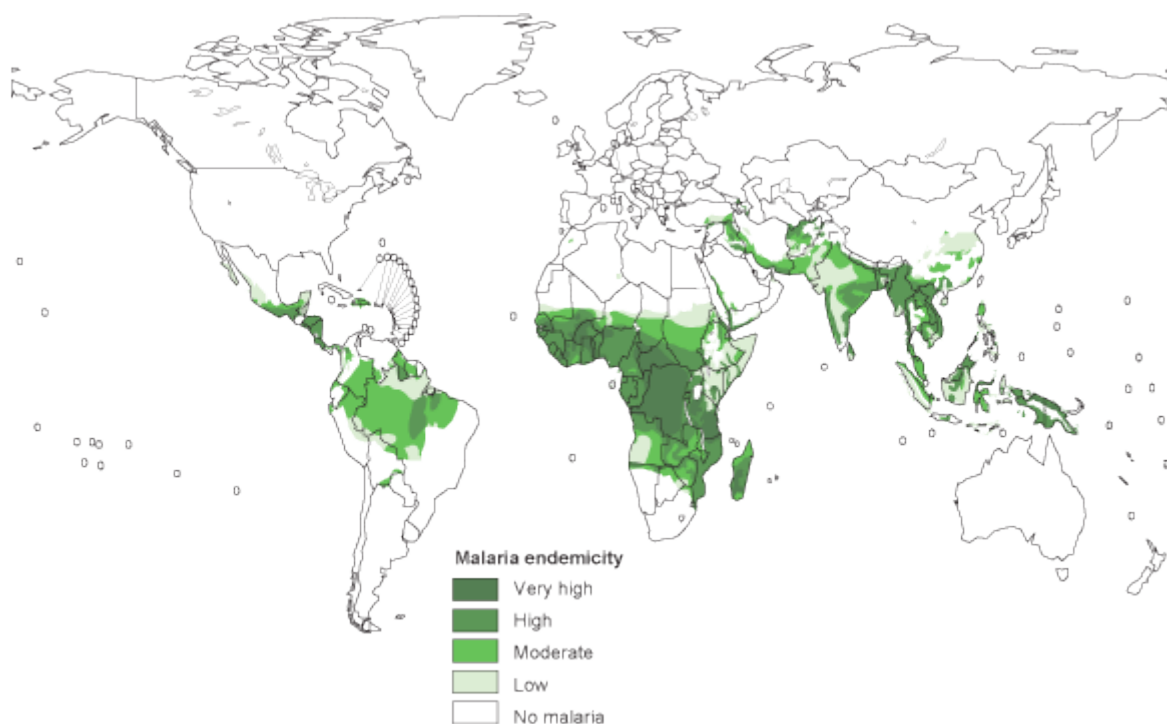


Abbildung 1: Weltweite Verbreitung von Malaria (<http://rbm.who.int/wmr2005/html/map1.htm>)

Obwohl intensiv geforscht wird, konnte bis jetzt kein effektiver Impfstoff gefunden werden und bei der Behandlung mit den gängigen Medikamenten Chloroquin und ¹Primaquin tauchen

¹ Referenzen: 1, 2, 3, 4, 6, 9

vermehrt resistente Parasiten auf, was bedeutet, dass dringend neue Medikamente gegen Malaria benötigt werden.

Neben der Bekämpfung mit Medikamenten wird versucht, die Lebensräume sowie die Anopheles-Mücken selbst zu vernichten, um damit den Lebenszyklus des Parasiten zu unterbrechen. Bedeutende Erfolge wurden in den 50er Jahren mit der Entdeckung des Insektizides Dichlorodiphenyltrichloroethan (DDT) und eines grossangelegten Projektes zur Ausrottung von Malaria erzielt. Doch Resistenzentwicklung gegenüber DDT und anderen Insektiziden schufen auch hier Probleme.

Malaria ist ohne Zweifel schon seit tausenden von Jahren auf der Welt vorhanden. Bereits die frühen Ägypter, Römer und Griechen berichteten darüber. Es ist daher nicht allzu verwunderlich, dass in Gebieten, in denen Malaria endemisch ist oder war, bei Menschen und Tieren genetische Mutationen auftreten, die einen erhöhten Schutz gegen die Krankheit bewirken. Schon in den frühen 50er Jahren wurden Studien zu diesem Thema veröffentlicht und darüber spekuliert, ob und wie die entsprechenden Allelfrequenzen mit Malaria zusammenhängen.

In dieser Fallstudie möchte ich zwei der bekanntesten Polymorphismen genauer betrachten; das Sichelzellmerkmal und die Thalassämie. Erläutert werden Fragen nach der Art des Merkmals sowie der Häufigkeit und Verbreitung bezogen auf die Malariagebiete. Im Diskussionsteil werde ich ausserdem kurz auf die Bedeutung dieser Polymorphismen für die Medikament- und Impfstoffentwicklung eingehen.^A

Vorgehen

Die Ergebnisse und Daten zu den Fragestellungen, sowie weitere Hintergrundinformationen, suchte ich mir vorwiegend übers Internet zusammen. Zu Beginn gestaltete sich die Suche jedoch alles andere als leicht. Besonders publizierte Forschungsarbeiten und Studien waren nicht einfach zu finden, da viele nicht freizugänglich sind. Das nächste Problem war, aus der Fülle von Material diejenigen Dokumente herauszusuchen, die ich tatsächlich für die Arbeit verwenden wollte. Denn um alle durchzuschauen fehlte mir die Zeit und es hätte wohl auch den Rahmen dieser Fallstudie gesprengt. Ich entschied mich dafür, vor allem neuere Arbeiten zu verwenden, in denen Resultate aus früheren Studien zusammenfassend dargestellt und mit neuen ergänzt worden waren.

Weiter benützte ich, insbesondere für den Einleitungsteil, veröffentlichte Berichte der WHO und des NIH (National Institute of Health, USA) sowie einige Informationen aus Büchern und von Wikipedia.

Ergebnisse

Hämoglobinvarianten

Genetische Defekte in den Hämoglobinen (Hb) oder in deren Synthese sind die meist verbreiteten genetischen Störungen bei denen nur ein Gen involviert ist.⁹ Neben den normalen Ausprägungsformen des Hämoglobins sind über 400 Mutationen bekannt.³

Der bekannteste Fall ist die Sichelzellanämie. Hierbei handelt es sich um eine einzige Aminosäure, die vertauscht ist. Anstatt Glutaminsäure (Glu) besitzt das Hämoglobin auf der β -Kette an Position 6 ein Valin (Val).⁷ Die roten Blutkörperchen nehmen bei Sauerstoffmangel eine sichelähnliche Form an, was zu Verklumpungen und Störungen im Blutkreislauf führt. Ausserdem sterben die deformierten Erythrozyten früher ab als normale. Individuen, die homozygot (HbSS) für das Sichelzellohämoglobin (HbS) sind, sterben mit 40 bis 50 Jahren, sofern sie die Krankheit behandeln. Ist nur ein Allel von der Mutation (HbAS) betroffen, so ist lediglich ein Teil der roten Blutkörperchen zu Sichelzellen verformt und die Träger leben weitgehend Beschwerden frei.^{3, 6, 7}

In diversen Studien wurde untersucht und nachgewiesen, dass vor allem in Schwarzafrika und Teilen des mittleren Ostens die heterozygote Version des Sichelzellmerkmals mit einer Frequenz von 15-20% vorkommt, was einiges höher ist, als für eine derartige Erbkrankheit normalerweise zu erwarten ist. Dies deutet stark darauf hin, dass eine natürliche Selektion stattfindet, die das Sichelzellmerkmal auf Grund seines schützenden Effekts gegenüber Malaria bevorzugt.^{7, 8, 9, 10}

Einigen Berichten zufolge gewährleistet das Sichelzellallel einen Schutz von 90% gegenüber schwerer Malaria und 60% gegen klinische Malaria, verursacht durch *P. falciparum*. Der genaue Schutzmechanismus ist bis heute nicht bekannt. Angenommen wird eine erhöhte Phagozytose und, dass die Vermehrung sowie Invasion der Plasmodien behindert wird. In Untersuchungen von Laborkulturen von *P. falciparum* konnten diese Effekte nachgewiesen werden.⁸

In einer vor ungefähr einem Jahr erschienen Studie an Kindern aus der Küstenregion von Kenia wurde nachgewiesen, dass der schützende Effekt von HbAS im Alter von 2 bis 10 Jahren von 20% auf 56% angestiegen ist und danach auf 30% abfiel. Diese Ergebnisse untermauerten Vermutungen der Autoren, dass die Malaria Resistenz des Sichelzellmerkmals womöglich nicht ausschliesslich angeboren ist, sondern mit einer erworbenen Malaria-spezifischen Immunität verbunden sein könnte.^{8, 10}

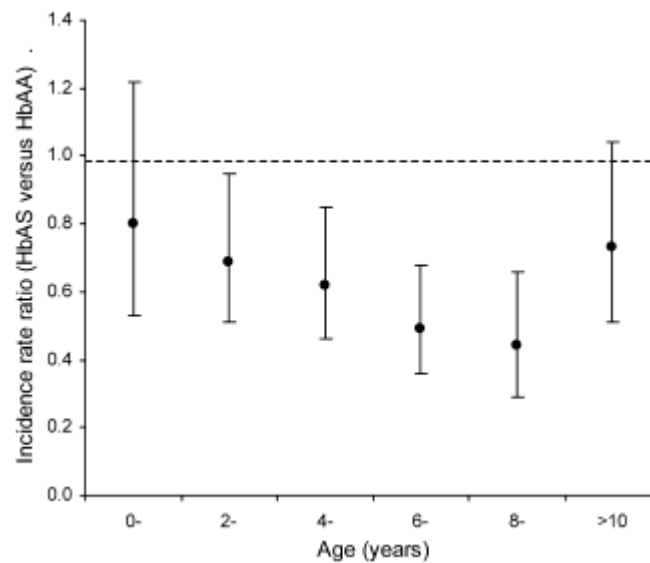


Abbildung 2: Ergebnisse der oben erwähnten Studie an Kindern aus Kenia¹⁰

Neben dem HbS Allel gibt es zwei weitere mutierte Formen des Hämoglobins, die einen Schutz gegen Malaria verleihen und polymorphe Frequenzen erreicht haben; Hämoglobin C und E. Bei HbC wurde auf Position 6 der β -Globin Kette Glutamin (Gln) durch Lysin (Lys) substituiert und das HbE Allel entstand durch Lysin (Lys) an Stelle von Glutaminsäure (Glu) auf Codon 26.⁹

Hämoglobin C kommt in verschiedenen Teilen West Afrikas vor, jedoch weniger häufig als HbS. Dies verwundert etwas, da der homozygote Genotyp (HbCC) eine weitaus mildere Form von Anämie ausprägt und stärker favorisiert werden sollte als das Sichelzellallel.^{7,8,9}

HbE trifft man in der östlichen Hälfte von Indien und in Südostasien an, mit Frequenzen von bis zu 60%. Homozygote Individuen (HbEE) weisen symptomlose Anämie auf.^{7,8,9}

Thalassämie

Eine weitere Krankheit, die durch genetische Defekte der Hämoglobinketten bedingt wird, ist die Thalassämie. Durch eine Deletion in den Globingenen auf Chromosom 11 und 16, wird die Synthese von α - oder β -Globin stark vermindert.⁷ Je nachdem welche der Ketten betroffen ist, spricht man von α - bzw. β -Thalassämie.

Homozygote Individuen für die β -Form leiden schon wenige Monate nach der Geburt an schweren Schäden, die als direkte Folge der Anämie angesehen werden können; unter anderem verschiedenen Schäden der inneren Organe, Wachstumsstörungen und Knochenfehlbildungen. Personen, die nur ein Allel tragen sind wie bei der Sichelzellanämie Symptom frei. Bei der α -Thalassämie liegt eine weitaus mildere Form bei beiden, homo- und heterozygoten, vor.^{3,7}

Häufiges Auftreten der Thalassämie erstreckt sich von Mittelmeerraum und Teilen Afrikas, über den mittleren Osten, Indien, Südostasien bis zu den Pazifischen Inseln. Die β -Form kommt mit Frequenzen von 1-20% vor, diejenigen der α -Thalassämie sind auf Grund der milderen Ausprägungsform, um einiges höher. Sie reichen von 10-20% in Schwarzafrika, 40% im mittleren Osten und Indien bis zu 80% in Teilen Papua Neuguineas.^{7, 8, 9}

Für einen soliden Nachweis eines schützenden Effekts gegenüber Malaria brauchten die Forscher länger als beim HbS Allel. Eine Studie in Kenya wies jedoch nach, dass homozygote und heterozygote α -Thalassämie eine gewisse Resistenz gegen Malaria bewirkt¹¹ und Untersuchungen in Papua Neu Guinea fanden bei homozygoter α -Thalassämie ein um 60% verringertes Risiko, an schwerer Malaria zu erkranken. Bei heterozygoten wurde eine 40%ige Verringerung beobachtet.^{7, 8, 9}

Dies führte zu der Annahme, dass Thalassämie ebenfalls Gegenstand einer natürlichen Selektion gegen Malaria war.^{7, 8, 9} Unterstützt wird diese Annahme durch Studien, die in jeder Population in der ein erhöhtes Auftreten der Thalassämie vorkam, eine andere Mutation fanden. Insgesamt wurden 200 verschiedene Mutationen entdeckt. Die Thalassämie scheint daher in allen Malariagebieten unabhängig entstanden und nicht etwas durch Migration verbreitet worden zu sein.

Der genaue Schutzmechanismus ist nicht vollkommen verstanden. Es liegen jedoch Resultate von in vitro Studien vor, die besagen, dass die Vermehrung von *P. falciparum* gehemmt und die Phagozytose erhöht wird.⁸

Tabelle 1: Zusammenfassung der beobachteten Schutzeffekte von Malaria bei verschiedenen Varianten von Erythrozyten⁷

	<i>In vitro</i>		<i>In vivo</i>
	Invasion/growth	Phagocytosis	Case control
HbAS	↓invasion/multiplication (low O2 conditions)	↑susceptibility to phagocytosis	Protection: severe malaria (60–90%); mortality (55%)
HbAC	normal	N/A	Reduced risk: clinical malaria (29%); severe malaria (47–80%)
HbCC	↓multiplication; altered knob formation	↑susceptibility to phagocytosis	Reduced risk of clinical malaria (90%)
HbAE	↓parasite invasion (25%)	↑susceptibility to phagocytosis	Reduced risk of complications (6.9 * reduced odds)
HbEE	↓invasion/multiplication	↑susceptibility to phagocytosis	N/A
α - Thalassämie	Normal invasion ↓multiplication	No difference from controls	Reduced risk of severe malaria (risk=0.4–0.66)
β - Thalassämie	inconclusive	↑susceptibility to phagocytosis	Protection against hospital admission with malaria (50%)

↓, decrease; ↑, increase; M, male; F, female

Diskussion

Bezüglich Malaria und genetischen Polymorphismen gibt es noch verschiedene offene Fragen und Mechanismen, die nicht vollständig geklärt sind. An der Tatsache, dass diese durch natürliche Selektion entstanden sind besteht jedoch kein Zweifel mehr. Die Krankheit gilt als die stärkste bis heute bekannte selektive Druckkraft in der Geschichte des menschlichen Genoms. Untersuchungen der Polymorphismen haben zudem auch die Kenntnisse über die Erreger, besonders *P.falciparum* und *P.vivax*, verbessert.

Im Zusammenhang mit den Hämoglobinvariationen tauchte die Frage auf, wieso die HbC Mutationen nicht häufiger vorkommen, da sowohl HbCC und HbAC lediglich eine milde Anämieform hervorrufen und doch vor Malaria schützen. Dieses Merkmal müsste deshalb im Grunde stärker bevorzugt werden als das Sichelzellallel. Möglicherweise bringt HbC einen bisher unbekanntem Fitnessnachteil mit sich, was in Zukunft bestimmt noch untersucht werden wird.

Neben den in dieser Arbeit besprochenen Polymorphismen gibt es noch eine Reihe weiterer genetischer Variationen, die vor Malaria schützen. Beispielsweise das Glucose-6-phosphat-dehydrogenase (G6PD) Defizit, das Pyruvat-Kinase Defizit oder die Duffy-negative Blutgruppe (der Duffy-Faktor ist ein Antigen und zugleich Rezeptor für *P. vivax*, d.h. Individuen ohne diesen Faktor sind gegen diesen Malariaerreger immun).^{6, 7, 8, 9}

Malaria ist ausserdem nicht die einzige Krankheit bei der genetische Defekte bekannt sind, die zu einer Immunität führen. Ein prominentes Beispiel ist der CCR5 Chemokinrezeptor der beim Eindringen des HI-Virus in die Zelle eine wichtige Rolle spielt. Davon ist eine Variante bekannt, wo beide Allele mutiert sind und der Rezeptor nicht ausgeprägt wird. Entsprechende Personen sind folglich gegen HIV immun.⁵ Man kann sich die Frage stellen, ob der CCR5 Rezeptor Defekt mit der Zeit ebenfalls höhere Frequenzen entwickeln wird; auf Grund von natürlicher Selektion gegen HIV. Dazu müsste die Krankheit jedoch noch tausende von Jahren mit grosser Häufigkeit in menschlichen Populationen vorhanden bleiben.

Ein dringendes Ziel der gesamten Malariaforschung ist, wie schon erwähnt, die Entwicklung eines effektiven Impfstoffes. Untersuchungen der genetischen Polymorphismen scheinen bis jetzt durchaus gute Ansätze für die Impfstoffforschung sowie Medikamententwicklung geliefert zu haben. Sie haben entscheidend dazu beigetragen beispielsweise das Eindringen von *P.falciparum* und *P.vivax* in die Blutzellen besser zu verstehen. Beobachtungen von Duffy-negativen Individuen haben den Startpunkt für die Entwicklung eines Impfstoffs geliefert, der sich momentan in der Testphase befindet. Weltweit haben Forschungsgruppen DNA Muster und klinische Daten von tausenden von Individuen mit schwerer Malaria gesammelt. Versucht wird nun, die Muster miteinander zu verbinden und eine globale Infrastruktur für eine genomische Epidemiologie von Malaria zu schaffen.⁷

Quellen

Bücher:

1. Madigan, Michael T./ Martinko, John M. (2006): Brock Biology of Microorganisms, 11th edition, Abschnitt 27.5

Websites:

2. <http://de.wikipedia.org/wiki/Malaria>

Forschungsarbeiten und Berichte:

3. Bericht über Malaria des NIH (2002) (<http://www.niaid.nih.gov/publications/malaria/>)
4. World Malaria report 2005 (<http://www.rbm.who.int/wmr2005/>)
5. Carrington, M., Dean, M., Martin, M.P., O'Brien, S.J. (1999) Genetics of HIV-1 infection: chemokine receptor CCR5 polymorphism and its consequences. *Human Molecular Genetics*, Vol. 8, No.10 1993-1945
6. Evans, A.G. and Wellems T.E. (2002) Coevolutionary Genetics of *Plasmodium* Malaria Parasites and Their Human Hosts. *Integ. And Comp. Biol.*, 42:401-407
7. Kwiatkowski D.P. (2005) How Malaria has affected the human genome and what human genetics can teach us about malaria. *Am. J. Hum. Genet.* 77:171-190
8. Min-Oo, G and Gros, P. (2005) Erythrocyte variants and the nature of their malaria protection effect. *Cellular Microbiology* 7(6), 753-763
9. Weatherall D. J., Miller L. H, Baruch D. I., Marsh K., Doumbo O. K., Casals-Pascual C. and Roberts D. J. (2002) Malaria and the red cell. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Programm)*: 35-57
10. Williams T.N., Mwangi T.W., Roberts D.J., Alexander N.D., Weatherall D.J., Wambua S., Kortok M., Snow R.W., Marsh K. (2005a) An immune basis for malaria protection by the sickle cell trait. *PLoS Med* 2: e128
11. Williams T.N., Wambua S., Uyoga S., Macharia A., Mwacharo J.K., Newton C.R., Maitland K. (2005b) Both heterozygous and homozygous α^+ thalassemias protect against severe and fatal *Plasmodium falciparum* malaria on the coast of Kenya. *Blood* 106:368-371