

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Jasmina L. Poluga

ODNOS KONCENTRACIJE
PROINFLAMATORNIH CITOKINA U
SERUMU I KLINIČKIH, PARAZITOLošKIH
I HEMATOLOšKIH PROMENA U TOKU
IMPORTOVANE MALARIJE

doktorska disertacija

Beograd

UNIVERSITY OF BELGRADE

SCHOOL OF MEDICINE

Jasmina L. Poluga

THE RELATION BETWEEN
CONCENTRATION OF THE
PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN
SERUM AND CLINICAL,
PARASITOLOGICAL AND
HEMATOLOGICAL CHANGES DURING
THE IMPORTED MALARIA

Doctoral Dissertation

Belgrade

Mentor:

Prof.dr Milorad Pavlović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Članovi komisije:

Prof. dr Mijomir Pelemiš, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Prof. dr Tatjana Pekmezović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Prof. dr Violeta Dopsaj, redovni profesor Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Datum odbrane:

ODNOS KONCENTRACIJE PROINFLAMATORNIH CITOKINA U SERUMU I KLINIČKIH, PARAZITOLŠKIH I HEMATOLOŠKIH PROMENA U TOKU IMPORTOVANE MALARIJE

REZIME: Malarija je multisistemska, potencijalno letalna bolest uzrokovana parazitima roda *Plasmodium*. Dokazano je da kod malarije oslobađanje proinflamatornih citokina produkuje sistemski, inflamatorni odgovor i da su njihove koncentracije povećane, posebno kod teških formi. Smatra se da su citokini odgovorni za pojavu temperature, povraćanja, proliva, mialgija, trombocitopenije, imunospupresije, koagulopatije i neuroloških manifestacija. U Klinici za infektivne i tropske bolesti u periodu 2000-2010. godine je lečeno 103 bolesnika sa importovanom malarijom. U ukupnom uzorku bolesnika određivani su najznačajniji klinički i laboratorijski parametri, sa posebnim osvrtom na stepen parazitemije. U prospektivnom delu istraživanja koje je uključivalo 34 bolesnika uzeti su citokini: TNF- α i IL-6. Najvažniji cilj disertacije je da se odredi nivo citokina TNF- α i IL-6 u dve faze: pre i posle terapije, i ustanovi njihova korelacija sa kliničkim, parazitološkim i hematološkim parametrima. Prema kriterijumima SZO za teške forme malarije formirana je grupa od 22 bolesnika i određivane su njihove najučestalije komplikacije, kao i razlike u odnosu na ukupan uzorak bolesnika. Ustanovljeno je da su u prvoj fazi povišeni nivoi citokina TNF- α i IL-6, i da postoji njihova jaka međusobna korelacija, kao i korelacija sa stepenom parazitemije, povišenim vrednostima d-dimera i laktata, leukopenijom i trombocitopenijom. Sem toga, utvrđeno je da je značajno veći broj bolesnika imao falciparum malariju, parazitemiju manju od 5%, da nije uzimao hemoprofilaksu, a trombocitopenija je bila najčešća laboratorijska abnormalnost. Bolesnici sa hiperparazitemijom imali su značajno veće vrednosti bilirubina i češću pojavu neuroloških komplikacija, dok su kod teških formi malarije ustanovljene značajno više vrednosti TNF- α i niže vrednosti trombocita.

Ključne reči: malarija, citokini, parazitemija, trombocitopenija, TNF- α , IL-6.

Naučna oblast: infektivne bolesti.

Uža naučna oblast: malarija.

THE RELATION BETWEEN CONCENTRATION OF THE PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN SERUM AND CLINICAL, PARASITOLOGICAL AND HEMATOLOGICAL CHANGES DURING THE IMPORTED MALARIA

ABSTRACT: Malaria is a multisystemic, potentially lethal disease caused by parasites of the genus Plasmodium. It has been proven that the release of proinflammatory cytokines in malaria produces systemic inflammatory response and that their concentrations are increased, especially in severe forms. It is considered that the cytokines are responsible for the occurrence of fever, vomiting, diarrhea, myalgia, thrombocytopenia, immunosuppression, coagulopathy and neurological manifestations. At the Clinic of Infectious and Tropical Diseases, 103 patients with imported malaria were treated during the period 2000-2010. The most important clinical and laboratory parameters were determined in the total sample of patients, with special reference to the degree of parasitemia. In the prospective part of the study that included 34 patients, the cytokines TNF- α and IL-6 have been taken. The main aim of the doctorate is to determine the levels of cytokines TNF- α and IL-6 in two phases: before and after treatment, and to establish their correlation with clinical, parasitological and hematological parameters. According to the WHO criteria for severe forms of malaria, a group of 22 patients was formed, and their most common complications were determined, as well as the comparison to the total sample of patients. It was confirmed that in the first phase, the levels of cytokines TNF and IL-6 are elevated and that there is their strong mutual correlation and correlation with the degree of parasitemia, elevated d-dimer and lactate levels, leukopenia and thrombocytopenia. In addition, it was found that a significantly greater number of these patients had falciparum malaria, as well as parasitemia less than 5%, that they did not take chemoprophylaxis, and the thrombocytopenia was the most common laboratory abnormality. Patients with hyperparasitemia had significantly higher values of bilirubin and more frequent occurrence of neurological complications, while in severe forms of malaria has been found significantly higher levels of TNF- α and the lower number of thrombocytes.

Keywords: malaria, cytokines, parasitemia, thrombocytopenia, TNF- α , IL-6.

Academic Expertise: infectious diseases.

Field of Academic Expertise: malaria.

SADRŽAJ

I UVOD	1
I 1 EPIDEMIOLOGIJA MALARIJE	1
I 2 ŽIVOTNI CIKLUS PARAZITA MALARIJE	3
I 3 PATOGENEZA MALARIJE	4
I 4 ULOGA CITOKINA U PATOGENEZI MALARIJE	5
I 5 KLINIČKA SLIKA I DIJAGNOZA	6
I 6 KOMPLIKACIJE MALARIJE	9
I 7 TEŠKE FORME MALARIJE	15
I 8 TERAPIJA MALARIJE	15
I 9 HEMOPROFILAKSA	18
I 10 VAKCINA	19
I 11 MALARIJA I HIV	20
II CILJEVI ISTRAŽIVANJA	21
III MATERIJAL I METODE	22
IV REZULTATI	25
IV 1 DISTRIBUCIJA BOLESNIKA PREMA KLINIČKIM I LABORATORIJSKIM PARAMETRIMA	25
IV 2 KORELACIJA KLINIČKIH I LABORATORIJSKIH PARAMETARA	33
IV 3 KORELACIJA PARAZITEMIJE SA KLINIČKIM I LABORATORIJSKIM PARAMETRIMA	37
IV 4 VREDNOSTI CITOKINA (TNF- α i IL-6) I NJIHOVA KORELACIJA SA KLINIČKIM I I LABORATORIJSKIM PARAMETRIMA	39
IV 5 TEŠKE FORME MALARIJE PREMA KRITERIJUMIMA SZO	44
IV 6 DOPUNSKE VIRUSOLOŠKE, BAKTERIOLOŠKE I PARAZITOLOŠKE ANALIZE	47
IV 7 TERAPIJA MALARIJE	48
V DISKUSIJA	51
VI ZAKLJUČCI	65
VII LITERATURA	66
VIII PRILOG	80

I UVOD

„Iako ne prenebregavamo realnost, bez obzira na to možemo biti sasvim uvereni da se malarija nalazi na putu da bude zaboravljena. Mene kao malariologa prožima predosećanje usamljenosti, a ja sam u mojoj organizaciji neka vrsta 'poslednjeg preživelog'. Stoga je možda najbolje da se na ovaj način osvrnem unazad na očaravajuće stranice iz istorije malarije.“ (1)

(Paul Rusell – „Man's Mastery of Malaria“, 1955)

I 1 EPIDEMIOLOGIJA MALARIJE

Malarija je multisistemska, potencijalno letalna bolest uzrokovana parazitima roda *Plasmodium*: *Plasmodium vivax* (karakterističan za područja Severne i Južne Azije, Centralne i Južne Amerike), *Plasmodium falciparum* (sub-Saharska Afrika, Melanezija), *Plasmodium ovale* (Zapadna Afrika), i *Plasmodium malariae* (javlja se sporadično) (2). *Plasmodium knowlesi* je peta vrsta parazita malarije, koji izaziva malariju kod Rezus makakija u Jugoistočnoj Aziji. Prvi slučaj humane malarije zabeležen je 1965. god. i od tada je prijavljeno svega nekoliko slučajeva izazvanih ovom vrstom plazmodijuma. Međutim, od 2004. god. beleži se porast broja obolelih u različitim zemljama, kao što su Borneo, Malezija, Tajland, Singapur, Filipini, Indonezija, tj. u područjima gde nema drugih oblika humane malarije. Zbog kratkog eritrocitnog ciklusa (24h), može se rapidno javiti visoka parazitemija, te samim tim i fatalan ishod. Mikroskopskim pregledom teško se razlikuje od *Pl. malariae*, zato infekcija ovim parazitom mora biti potvrđena PCR tehnikom. Klinički tok bolesti kod većine obolelih od malarije izazvane *Pl. knowlesi* karakteriše se povoljnim ishodom na primenu terapije, ali kod približno 10% obolelih dolazi do pojave fatalnih komplikacija (3, 4, 5, 6).

Prenosilac malarije je ženka komarca iz roda *Anopheles*, dok su ostali načini prenošenja putem transfuzija krvi (što se naročito odnosi na endemične regione), transplantacijom organa, sa majke na fetus tzv. kongenitalna malarija, i akcidentalno

(npr. ubodom na iglu). Donor može biti infektivan godinama, što u slučaju infekcije *Pl. falciparum* iznosi 1-3 godine, *Pl. vivax* 3-4, a kod *Pl. malariae* čak 15-50 godina (7).

Ovo parazitarno oboljenje javlja se kod više od 40% svetske populacije, u preko 100 zemalja, od kojih 90% čine sub-Saharska Afrika, Indija, Brazil, Sri-Lanka, Vijetnam, Kolumbija, Solomonska ostrva itd. Smatra se da svake godine od malarije oboli 300-500 miliona ljudi, od kojih je približno 30.000 putnika u endemska područja. Procenjen broj smrtnih slučajeva je 1.5-3.0 miliona godišnje, 90% od tog broja je registrovano u sub-Saharskoj Africi, smatra se da svakih 20 sekundi od malarije umire jedno dete u Africi. Malarija je u različitom obimu prisutna u 105 zemalja, pri tome je u većini njih zabeležena pojava rezistentnih sojeva parazita (8). U Evropskoj Uniji, godišnje se prijavi 11.000 slučajeva importovane malarije, od čega približno 8.000 slučajeva čini *falciparum* malarija (9). Stopa mortaliteta iznosi od 0.3% do 2.2% globalno, i 11% do 30% za obolele sa teškim formama malarije (10). SZO je 1975. god. objavila da je „Evropa oslobođena malarije“, pri čemu je 1964. god. malarija eradicirana u Jugoslaviji. Međutim, u Srbiji se svake godine registruju slučajevi importovane malarije, te je prema podacima Instituta za javno zdravlje u periodu 2000-2010. godine zabeleženo 121 slučajeva importovane malarije (11).

Za SZO malarija predstavlja glavni prioritet što se tiče tropskih bolesti, a vodeća misija organizacije osnovane pod pokroviteljstvom SZO 1998., Roll Back Malaria-e (RBM) je vizija čovečanstva oslobođenog balasta malarije. Cilj ovih organizacija je redukcija broja slučajeva malarije i broja umrlih za 50% do kraja 2010 i 75% do kraja 2015. Ukupno 11 zemalja Afričkog regiona prijavilo je redukciju broja slučajeva malarije i smrtnih ishoda za 50%. Pad broja prijavljenih slučajeva malarije za više od 50% od 2000. do 2009. zabeležen je u 32 od 56 zemalja endemskog regiona van Afrike, a opadajući trend od 25-50% i u osam drugih zemalja. Procenjuje se da je broj smrtnih slučajeva od 985.000 u 2000., smanjen na 781.000 u 2009., pri čemu je najveći pad zabeležen u zemljama Afrike. U svetu je 2009. bilo 225 mil. obolelih od malarije i veći deo od ovog broja su nekomplikovani slučajevi. Smatra se da godišnje oko 8 miliona obolelih razvije kliničku sliku teške malarije (12).

Kontrola malarije je „težak zadatak“ obzirom da uključuje tri živa bića, i usmerena je na tri ključna faktora: čoveka (domaćin), parazita (agens) i komarca (vektor). Uslovljena je pravovremenom dijagnozom i lečenjem, personalnom zaštitom

koja obuhvata repelente, zaštitne mreže i hemoprofilaksu, kao i merama za kontrolu komaraca (uništavanje legala, primena larvicida i insekticida). Najznačajniji problemi koji se odnose na pomenuta tri faktora su komplijansa, rezistencija na lekove i rezistencija na insekticide (13, 14, 15).

I 2 ŽIVOTNI CIKLUS PARAZITA MALARIJE

Ubodom inficirane individue komarac usisava gametocite (seksualne forme) sa krvlju. Gametociti nastavljaju seksualnu fazu ciklusa i formirani sporozoiti ulaze u pljuvačne žlezde inficiranog komarca. Komarac prilikom uboda unosi sporozoite koji krvnom strujom šire infekciju. Tkivna/Preeritrocitna šizogonija ili aseksualna deoba počinje ulaskom sporozoita u jetru i njihovim razvojem u parenhimu jetre, čime nastaju trofozoiti. Ova faza pripada inkubacionom periodu koji za *Pl. falciparum* iznosi 8-25 dana, *Pl. vivax* 8-27 dana, *Pl. ovale* 9-17 dana i *Pl. malariae* 15-30 dana. Najduži zabeležen inkubacioni period je za *Pl. vivax* i iznosi 30 godina (16). Treba napomenuti da neki od sporozoita *Pl. vivax* i *Pl. ovale* ostaju u stanju hibernacije (hipnozoiti ili dormanti), to je tzv. kriptobiotička faza, koja ima značaja u kliničkoj slici malarije. Svaki trofozoit multiplicira se u 20-30000 merozoita, koji se rupturom jetrenih ćelija oslobađaju u krv i inficiraju eritrocite. Svaki merozoit deli se na 8-32 nova merozoita koji inficiraju nove eritrocite, ciklus se ponavlja svakih 48-72h i to je eritrocitna šizogonija. Aseksualnom deobom paraziti se razvijaju u prestenastu – ring formu, nezrele i zrele šizonte (8).

Sve kliničke manifestacije malarije udružene su sa eritrocitnom fazom i rezultat su oslobađanja različitih faktora i toksina membrane eritrocita i parazita koji stimulišu oslobađanje citokina (TNF- α , IL-1, IL-6 i drugih) (17). Neki od merozoita plazmodijuma transformišu se u seksualne forme, gametocite, koje preuzima ženka *Anopheles*, nastavljajući životni ciklus do infektivnih sporozoita. Ovo čini seksualnu deobu – sporogoniju, kojom muški i ženski gametociti formiraju zigot, ookinete, oociste i na kraju sporozoite (8).

Za malariju su karakteristične dve pojave:

1. rekrudescencija koja predstavlja ponovnu kliničku aktivnost nakon 8-10 sedmica (nekada i više godina) od prvog ataka. Javlja se kod malarije izazvane *Pl. falciparum* i *Pl. malariae*, i nastaje od preživelih eritrocitnih formi parazita.
2. relaps koji se karakteriše ponovnom kliničkom aktivnošću nakon 30-40 sedmica (može se javiti i nakon 3 godine) od prvog ataka. Karakterističan je za malariju izazvanu *Pl. vivax* i *Pl. ovale*, a nastaje reaktivacijom hipnozoita iz jetre (18).

I 3 PATOGENEZA MALARIJE

Patogeneza malarije još uvek nije dovoljno jasna i smatra se da je rezultat kompleksne interakcije unutar vaskularnog sistema, a posredovana je humoralnim, vaskularnim i hematološkim faktorima. To je imunski posredovana inflamatorna reakcija kojom se oslobađaju vazoaktivni produkti koji uzrokuju oštećenje endotela. Trofozoiti unutar eritrocita indukuju promene u samom eritrocitu, što ih čini prijemčivim za adherenciju na vaskularni endotel. Rezultat toga je pojačana sekvestracija eritrocita, mikrovaskularna kongestija i tkivna hipoksija. Procesi citoadherencije, formiranja rozeta i aglutinacije su centralni u patogenezi malarije (19).

Pl. falciparum koji je odgovoran za većinu teških formi oboljenja je jedina vrsta koja indukuje citoadherenciju eritrocita koji sadrže zrele forme parazita na vaskularni endotel. Kad parazit sazri, njegovi proteini se transportuju i insertuju u membranu eritrocita. Visokomolekularni transmembranski protein 1 ili PfEMP1 je najvažniji ligand u procesu citoadherencije koji je najefektivniji u drugoj polovini životnog ciklusa parazita. Drugi površinski proteini koji mogu igrati ulogu u citoadherenciji su rifin i sekvestrin (20). Citoadherencija uzrokuje sekvestraciju parazitiranih eritrocita u mikrocirkulaciji, glavnim kapilarima i postkapilarnim venulama. Studije autopsije pokazuju da sekvestracija nije zastupljena ravnomerno u organizmu, najveća je u mozgu, značajna u srcu, očima, jetri, bubrezima, intestinumu i masnom tkivu. Sem već pomenute eritrocitne sekvestracije, smatra se i da intravaskularna akumulacija trombocita takođe ima ulogu u citoadherenciji. Sekvestracija parazitiranih eritrocita kompromituje mikrocirkulaciju u vitalnim organima. Radeći sinergistički, redukcijom lumena uzrokovanim sekvestracijom, rigidni eritrociti verovatno dalje redukuju protok

krvi u mikrocirkulaciji vitalnih organa uzrokujući laktičnu acidozu, organsku disfunkciju i letalni ishod. Trebalo bi naglasiti da je laktična acidoza značajan prediktor ishoda bolesti kod falciparum malarije. U daljem toku, formacije eritrocita grupišu se u rozete i autoaglutinacijom mogu još više kompromitovati protok. Formacija rozeta je in vitro fenomen u kome neinficirani eritrociti adheriraju na eritrocite koji sadrže zrelu formu parazita, ali njihova uloga u patofiziologiji još nije jasno utvrđena (21).

I 4 ULOGA CITOKINA U PATOGENEZI MALARIJE

Dokazano je da kod malarije, kao i kod drugih sistemskih infekcija i oboljenja, oslobađanje proinflamatornih citokina produkuje sistemski, inflamatorni odgovor. Jaka paralela koja postoji između sepse i malarije, sagledana je upravo iz perspektive širokog stepena, funkcionalno značajnih inflamatornih citokina prisutnih u cirkulaciji kod oba oboljenja. Jedna od mnogih aktivnosti citokina, odgovornih za sistemski, inflamatorni odgovor je neodgovarajuća oksidativna fosforilacija unutar mitohondrija. Ovo rezultira hiperlaktatemijom, koja se obično viđa kod težih infektivnih oboljenja i korelira sa lošim ishodom. Dosadašnja istraživanja vezana za sepsu i malariju pokazala su da se TNF- α , prototip proinflamatornih citokina, povećava u oba oboljenja, izazivajući hiperlaktatemiju (22, 23).

Ustanovljeno je da nivoi laktata u serumu kod teške malarije koreliraju sa vrednostima TNF- α , IL-1 i IL-6. Dobro je poznato da povećana regulacija proinflamatornih citokina u procesu adhezije na endotelijalne ćelije privlači cirkulišuće elemente krvi na unutrašnji zid krvnog suda. U mnogim oboljenjima, kao i kod malarije, ovo uključuje aktivirane leukocite i trombocite koji igraju značajnu ulogu u prokoagulantnoj aktivnosti. Dosadašnja istraživanja pokazala su da proinflamatorni citokini (najviše je izučavan TNF- α), povećavaju ekspresiju na endotelijalnim ćelijama molekula na koje parazitirani eritrociti adheriraju (22). Citokini povećavaju ekspresiju tkivnog faktora na endotelijalnim ćelijama i monocitima i pomoću toga iniciraju put kojim se stvara trombin, molekul sa značajnim ulogama u unakrsnim reakcijama inflamacije i koagulacije. Vezujući se za trombomodulin, receptor trombina na površini ćelija endotela, trombin aktivira protein C koji može razgraditi Faktor VIIIa i Faktor

Va, glavne faktore u aktivaciji Faktora X i protrombina. Ova povratna sprega igra centralnu ulogu u održavanju koagulacije u hemostazi (24).

Brzina, vreme i intenzitet oslobađanja citokina značajno varira u različitim stadijumima bolesti i između različitih individua, te time formira karakterističnu kliničku sliku. Smatra se da su proinflamatorni citokini odgovorni za pojavu temperature, mučnine, povraćanja, proliva, anoreksije, mialgija, trombocitopenije, imunospupresije, koagulopatije i neuroloških manifestacija. Pri tome se najčešće misli na TNF- α koji je njihov „predstavnik”, ali i na druge, kao što su: limfotoksin (LT), interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) i solubilni Fas ligand (FasL), koji imaju slične funkcije (22).

U teškim formama malarije koncentracije proinflamatornih citokina kao što su TNF- α , IL-1, IL-6, i IL-8 u serumu su povišene. Visok nivo TNF- α kod obolelih sa falciparum malarijom korelira sa težinom bolesti, pojavom hipoglikemije, hiperparazitemije, žutice, bubrežnim oštećenjem, kardiovaskularnim komplikacijama i smrtnim ishodom (25). Osobe umrle od falciparum malarije imale su veće vrednosti IL-6, IL-10 i TNF- α u serumu, u odnosu na one koje su preživjele. S druge strane, kod oporavljenih osoba je nakon terapije zabeležen značajan pad vrednosti citokina u serumu (26).

I 5 KLINIČKA SLIKA I DIJAGNOZA

Nepravovremeno postavljena dijagnoza malarije može dovesti do ozbiljnih posledica, pogotovu kod neimunih osoba koje su pod visokim rizikom razvoja teške i komplikovane malarije. Naprotiv, kod imunih osoba, klinička slika je je obično lakša, značajan broj (do 80%) može proticati asimptomatski (8).

Klinički simptomi malarije mogu podsećati na neku od uobičajenih virusnih infekcija, što može odložiti postavljanje tačne dijagnoze i samim tim primenu adkvatne terapije. Tipičnu kliničku sliku karakterišu visoka temperatura, groznica i preznojavanje (Cold stage, Hot stage and Sweating stage) (27). Povišena temperatura je prisutna u 78-100% slučajeva obolelih, i obično se njena periodičnost retko sreće. Spektar drugih simptoma je vrlo veliki i obuhvata: glavobolju, zamor, slabost, vrtoglavicu, mialgije, mučninu, povraćanje, proliv, kašalj, otežano disanje, bolove u grudima, bolove u truhu, poremećaje ponašanja, konfuznost, konvulzije i dr. Ozbiljnije

manifestacije se obično javljaju kod falciparum malarije, u početku infekcije, vezano za ekstremni uzrast (deca, starije osobe), kod imunokompromitovanih, kod relapsa, u trudnoći, i kod postojanja težih preegzistentnih oboljenja (28). Fizikalnim pregledom, sem povišene temperature, često registrujemo hepatomegaliju i splenomegaliju, a ponekad i žuticu (29).

Sem kliničkog pregleda, u dijagnozi malarije veliki značaj imaju određena hematološka, biohemijska i parazitološka ispitivanja. Broj leukocita je obično normalan ili snižen, leukocitoza se sreće u manje od 5% slučajeva i predstavlja faktor loše prognoze. Vrednosti sedimentacije, C-reaktivnog proteina (CRP) i prokalcitonina su uglavnom povišene (30). Trombocitopenija je najčešća laboratorijska abnormalnost (60%), zatim slede hiperbilirubinemija (40%), anemija (30%), povišene vrednosti jetrinih aminotransferaza (25%) i laktat dehidrogenaze (do 80% slučajeva). Povišene vrednosti bilirubina, uz povišenje laktat dehidrogenaze sugerišu hemolizu.

Abnormalnosti elektrolita, posebno hiponatriemija, mogu biti prisutne, dok se povećan nivo kreatinina obično javlja u sklopu bubrežne insuficijencije kao komplikacije.

Hipoglikemija je nekada prisutna kod visoke parazitemije, a povišen nivo laktata javlja se takođe kod težih formi (31). Od značaja su i vrednosti faktora koagulacije, protrombinsko i parcijalno tromboplastinsko vreme (PT, PTT), koji su često produženi kod težih formi, uz pojavu DIK-a kao jedne od najtežih komplikacija (29).

Parazitološka dijagnostika obuhvata pregled guste kapi („thick films”) i razmaza periferne krvi („thin films”) bojenih Gimzom, što prestavlja „zlatni standard” u rutinskoj dijagnostici. Ovi pregledi omogućavaju kvalitativnu i kvantitativnu dijagnostiku tj. identifikaciju parazita, uz određivanje procenta inficiranih eritrocita tzv. parazitemiju (32) Ako je parazitemija veća od 5 %, smatra se da je reč o teškoj formi malarije, kada je veća od 2% obično je u pitanju falciparum malarija. Stepem parazitemije ne korelira uvek sa težinom oboljenja, načelno, visoka parazitemija najčešće ukazuje na težu formu malarije i zahteva urgentne intervencije, pre svega parenteralnu primenu antimalarika (10). Pregledom razmaza periferne krvi, sem stepena parazitemije određujemo i zrelost parazita. Prisustvo zrelih ring formi, trofozoita koji sadrže pigment, ili šizonata, udruženo je sa lošom prognozom. Prisustvo malaričnog pigmenta (hemozoina) u neutrofilima odraz je prolongirane infekcije sa velikim brojem sekvestriranih parazita (16). Sem toga, pregled razmaza periferne krvi

nam omogućava praćenje efekata lečenja, te se zato ponavlja najmanje jednom dnevno, naročito u slučaju teških oblika malarije (29).

Sem pomenutih standardnih pregleda, koriste se i brzi testovi (RDT), kao što je Parasight-F. Ovaj test je veoma koristan u inicijalnom skriningu febrilnih povratnika iz endemskih krajeva. Baziran je na detekciji solubilnog antigena, glikoproteina (HRP2), specifičnog za *Pl. falciparum*. Njegova sekrecija počinje rano u eritrocitnom ciklusu parazita, a maksimum dostiže tokom rupture šizonta. Prema dosadašnjim kliničkim ispitivanjima, senzitivnost testa je iznosila od 86.7% do 93.4%, a specifičnost od 98.2% do 99.3%. Tehnika PCR je senzitivna (više od 90%) i visoko specifična (100%), ali se uglavnom ne koristi u rutinskoj, kliničkoj dijagnostici, već prevashodno u istraživačke svrhe (33, 34, 35).

Obzirom da za malariju važi da je „veliki imitator i prevarant”, diferencijalno dijagnostički problem, generalno, mogu predstavljati sva oboljenja koja karakteriše povišena temperatura. Obzirom na to, malariju treba naročito razlikovati od tifusa, denge, bruceloze, respiratornih i urinarnih infekcija, mada treba misliti i na amebni apsces jetre, lajšmanijazu, tripanozomijazu, rikecioze i povratnu groznicu. Zbog prateće žutice i hepatomegalije, neophodno je isključiti virusne hepatitise, leptospirozu, žutu groznicu, toksična oštećenja jetre i oboljenja bilijarnog trakta (36).

Spektar različitih oboljenja koje treba razmotriti u diferencijalnoj dijagnozi podeljen je prema različitim organskim sistemima: (37)

1. Respiratorni sistem – faringitis, bronhitis, pneumonija, pleuritis
2. Kardiovaskularni sistem – akutni infarkt miokarda, kardiogeni šok, oštećenje leve komore, perikarditis
3. Gastrointestinalni sistem – hepatitis, absces jetre, splenitis, absces slezine, drugi uzroci splenomegalije, subdijafragmalni abscesi, akutni abdomen, holecistitis, holangitis, gastroenteritis, amebijaza, apendicitis
4. CNS – akutni encefalitis, meningitis, intrakranijalni ekspanzivni procesi, cerebrovaskularni insult, metabolička encefalopatija, akutno konfuzno stanje, akutna psihoza
5. Urogenitalni sistem – akutni nefritis, nefrotski sindrom, akutna bubrežna insuficijencija.

Treba razmišljati i o mnogim hematološkim oboljenjima kao što su razni oblici anemija, pre svega hemolitička, zatim krvne diskrazije, hemoglobinopatije, poremećaj koagulacije, DIK i dr.

I 6 KOMPLIKACIJE MALARIJE

Komplikacije malarije javljaju se pre svega kod falciparum malarije, pri čemu su uključeni mnogi organski sistemi, i/ili poremećeni hematološki i biohemijski parametri o kojima je bilo reči.

Što se tiče kardiovaskularnog sistema najčešće komplikacije su hipotenzija i edem pluća, što u nekim slučajevima može dovesti do pogoršanja preegzistentne kardijalne dekompenzacije. Zato je malarija često fatalno oboljenje kod srčanih bolesnika, pogotovu ako se uzme u obzir činjenica da su neki od lekova koji se koriste u terapiji malarije potencijalno kardiotoksični (kinin, meflokin, halofantrin) (38).

Edem pluća

Kod edema pluća, smrtnost iznosi i do 50%, a obično se javlja kasnije u odnosu na ostale komplikacije, često u poboljšanju i redukciji periferne parazitemije. Mehanizam još uvek nije dovoljno jasan, ali se smatra da tome doprinose sekvestracija eritrocita i blokiranje plućne mikrocirkulacije, uz povećanu propustljivost plućnih kapilara i razvoj DIK-a. Prekomerna hidratacija takođe može biti uzrok, smatra se da je kod malarije tanka granična linija između nedovoljne i prekomerne hidratacije, što zahteva poseban oprez za kliničkog lekara (16). Edem pluća je češći kod hiperparazitemije, oštećenja bubrega, trudnoće, a obično je udružen sa hipoglikemijom i metaboličkom acidozom. Manifestuje se povećanim brojem respiracija (tahipnea), uz pojavu bazalnih pukota, cijanoze, tahikardije, dispnee i razvojem ARDS-a. Kao posledica navedenog nastaje hipoksija koja može dovesti do razvoja konvulzija i poremećaja sensorijuma. U terapiji se pored antimalarika primenjuju kiseonik, diuretici (furosemid 40 mg i.v., do doze od 200 mg), uz redukciju volumena tečnosti i primenu mehaničke ventilacije, ukoliko je to neophodno (39).

Šok (Algid) malaria

Javlja se kao posledica dehidracije udružene sa visokom temperaturom, obilnim znojenjem i neadekvatnim unosom tečnosti. Ponekad je dehidracija udružena sa povraćanjem i/ili prolivom, a može se javiti i kod edema pluća i metaboličke acidoze. Često je stanje šoka prisutno kod masivnih gastrointestinalnih hemoragija i Gram negativnih septikemija, koje su najčešće posledica smanjenog imuniteta i sekundarnih infekcija (i.v. linije, kateteri). U terapiji se koriste parenteralni rastvori (NaCl, Ringer laktat), plazma volumen ekspanderi (dekstran), transfuzije eritrocita, dopamin, antiemetici i antibiotici širokog spektra. Neophodno je uzimanje hemokultura i urinokultura (16).

Cerebralna malarija

Cerebralna malarija se striktno definiše kao prisustvo ireverzibilne kome, uz isključivanje drugih vrsta encefalopatije i potvrdu *Pl. falciparum* infekcije. Mortalitet kod ove forme je veoma visok i iznosi kod odraslih 20%, a kod dece 15%. Ovaj pojam generalno obuhvata veći broj neuroloških i psihijatrijskih poremećaja koji se mogu javiti u sklopu ove komplikacije, a mogu biti izazvani različitim uzrocima:

1. visoka temperatura može izazvati oštećenje svesti, febrilne konvulzije (deca) i psihoze
2. antimalarični lekovi mogu izazvati promenu ponašanja, konvulzije, halucinacije i psihoze
3. hipoglikemija, hiponatrijemija, teška anemija i hipoksemija takođe dovode do ove vrste komplikacija

Sem navedenog, mogu se sresti paralize kranijalnih nerava, hemiplegije, otežana antefleksija vrata, retinalne hemoragije, trizmus, bruksizam, pozitivan refleks „pućenja”, opistotonus, delirijum i td. (40)

Patofiziološki mehanizmi cerebralne malarije još uvek nisu sasvim jasni, ali se najviše značaja pridaje ulozi citokina, posebno TNF- α , IL-1, IL-6 i IL-8, koji oslobađanjem iz makrofaga, monocita i verovatno endotela, uzrokuju vodeće simptome i znake bolesti. Utvrđena je pozitivna korelacija između njihove koncentracije (posebno TNF- α) i moždanog oštećenja koje rezultira smrtnim ishodom (23). Ukoliko dođe do razvoja cerebralne malarije neophodno je uraditi lumbalnu punkciju. Uobičajen

nalaz u CST govori u prilog diskretne pleocitoze, povišenih vrednosti proteina i laktata. U terapiji se koriste parenteralni antimalarici, kao i u svim teškim formama. Novije studije su jasno pokazale prednost intravenskog artesunata nad kininom u ovoj formi teške malarije, pri čemu razlika u broju smrtnih ishoda iznosi oko 7%. Lečenje konvulzija obuhvata parenteralnu primenu benzodiazepina, fenobarbitona i fenitoina. Prema najnovijim preporukama, ne treba primenjivati kortikoide, pentoksifilin, adrenalin i heparin. Manitol se preporučuje samo kod dece, kada postoji jasan dokaz o povećanom intrakranijalnom pritisku (40, 41).

Krvarenje i poremećaji koagulacije

Krvarenje i poremećaji koagulacije obično su udruženi sa trombocitopenijom i razvojem DIK-a. Zreli parazitirani eritrociti i citokini aktiviraju kaskadu koagulacije, usled čega nastaje potrošnja antirombina III (AT3), povećana koncentracija fibrin degradacionih produkata (FDP) i povećana eliminacija trombocita u slezini. Trombocitopenija se najčešće javlja kod težih formi falciparum malarije, a DIK kod cerebralne malarije, trudnoće i sekundarnih bakterijskih infekcija, pri čemu pojava DIK-a uslovljava i razvoj drugih komplikacija. Produženo protrombinsko (PT) i parcijalno tromboplastinsko vreme (PTT) sugeriše razvoj DIK-a, uz pad nivoa fibrinogena i porast FDP-a (d-dimer). U terapiji se primenjuju: SSP, vitamin K (10 mg i.v.) i eksangvino transfuzija (42).

Anemija

Smatra se da je ova komplikacija multifaktorijelna, jer nastaje sadejstvom:

1. destrukcije parazitiranih eritrocita,
2. ubrzane destrukcije neparazitiranih eritrocita
3. disfunkcije koštane srži
4. skraćenog života eritrocita,
5. smanjene eliminacije abnormalnih eritrocita u slezini, i
6. smanjenja koncentracije IL-10, a povećanja koncentracije TNF- α .

Anemija i povišena temperatura povećavaju srčani volumen i ova kombinacija može biti fatalna za bolesnike sa preegzistentnim srčanim oboljenjem. Vrednost hemoglobina manja od 7g% je indikacija za transfuziju (29).

Hemoliza, hemoglobinurija, crnomokraćna groznica

Intravaskularna hemoliza može biti udružena sa imunskom ili neimunskom destrukcijom parazitiranih eritrocita. Promene u strukturi antigena eritrocita prouzrokovane parazitarnom invazijom stimulišu produkciju antitela protiv eritrocita, što predstavlja „okidač“ za imunski posredovanu lizu eritrocita. Javlja se i kod bolesnika sa deficitom G6PD kod davanja pojedinih antimalarika (najčešće primakin). Povećano oslobađanje hemoglobina dovodi do hemoglobinurije, koja se morfološki ogleda u tamnoj boji urina, što se naziva „crnomokraćna groznica“ (black water fever). Ove promene dovode do oštećenja bubrega, hiperbilirubinemije i oštećenja jetre. U terapiji se primenjuju transfuzije, diuretici (furosemid), a ponekada je zbog razvoja bubrežne insuficijencije neophodna dijaliza(43).

Žutica

Malarija je čest uzrok žutice u endemskim regionima. Rezultat je dejstva više faktora: intravaskularne hemolize parazitiranih eritrocita, hepatičke disfunkcije, mikroangipatske hemolize udružene sa DIK-om, oštećenja jetrine funkcije kao posledica septikemije, a prisutna je i u slučajevima konkomitantnog, virusnog hepatitisa. Češće je izazvana hemolizom, što se manifestuje nekonjugovanom hiperbilirubinemijom, dok je kod teških formi falciparum malarije prisutna hepatička disfunkcija sa konjugovanom hiperbilirubinemijom i to se naziva malarični hepatitis (42).

Akutna bubrežna insuficijencija

Može se javiti u prisustvu i odsustvu parazitemije, pri čemu bolesnici najčešće nemaju oliguriju. Kod fulminantne prezentacije postoji visoka incidencija hepatičke disfunkcije, metaboličke acidoze i plućnog edema. Javlja se kortikalna vazokonstrikcija i hipoperfuzija što rezultira akutnom, tubularnom nekrozom uz mikrovaskularnu obstrukciju i masivnu, intravaskularnu hemolizu (black water fever) (44, 45).

Metabolička (laktična) acidoza

Nastaje usled smanjene filtracije u jetri, ali pre svega kombinovanim efektima faktora koji redukuju oslobađanje kiseonika u tkiva. Slaba tkivna perfuzija je u nekim slučajevima udružena sa hipovolemijom, povećanom produkcijom laktata izazvanom parazitemijom, ali i direktnom stimulacijom citokinima, posebno TNF- α , usled oštećenja bubrežne funkcije (22). Značajna koncentracija laktata ustanovljena je kod teških i fatalnih slučajeva, i korelira sa nivoima TNF- α i IL-1. Smatra se da je venska koncentracija laktata 4h posle prijema u bolnicu najbolji prognostički indikator teške malarije (46).

Hipoglikemija

Hipoglikemija se najčešće javlja kod teških oblika falciparum malarije, naročito kod dece i trudnica. Multifaktorijske je etiologije i uzrokovana je malapsorpcijom glukoze zbog redukovano splanhničnog protoka krvi, povećanog tkivnog metabolizma glukoze, potrošnjom glukoze od strane parazita, citokinima indukovanom oštećenju glukoneogeneze i hiperinsulinemije udružene sa terapijom kininom. U slučajevima teške falciparum malarije obično je udružena sa anemijom težeg stepena, žuticom, hiperparazitemijom i laktičnom acidozom. (47)

Hiperparazitemija

Parazitemija veća od 5% najčešće je udružena sa visokim mortalitetom, pri čemu delimično imunizovana deca mogu tolerisati visoku parazitemiju (20-30%). Obavezno je lečenje parenteralnim antimalaricima, a u slučaju da parazitemija prelazi 10% primenjuje se eksangvinotransfuzija (27). Eksangvinotransfuzija (ET) se primenjuje od 1974. god., sa ohrabrujućim rezultatima, ali nijedna randomizirana studija nije u potpunosti dokazala prednost ET. Ona omogućuje brzu zamenu cirkulišućih parazita, ali patofiziološki značajna sekvestrirana materija nije dostupna zameni. Najnovije studije pokazuju da ET rezultira i odstranjivanjem rigidnih, nedeformisanih i neparazitiranih eritrocita. Poseban značaj imaju komplikacije koje se mogu javiti tokom ove metode lečenja, a to su: febrilnost, alergijske reakcije, metaboličke promene, transmisija infekcija, cerebralne hemoragije i sepsa (28). Konsenzus o indikacijama za primenu ET još uvek nije jasno definisan, ali se smatra da se hiperparazitemija veća od

30%, ili veća od 10% u prisustvu teške forme oboljenja ili loših prognostičkih pokazatelja malarije može smatrati indikacijom (36, 48).

Jedna od veoma retkih komplikacija malarije je ruptura slezine, na koju ukazuje abdominalni bol i/ili razvoj šoka. Ultrazvučni ili CT pregled abdomena i pregled hirurga su obavezni ako se sumnja na ovu komplikaciju (29).

Hronične komplikacije

Najčešće hronične komplikacije malarije su: (38)

a. Hipereaktivna malarična splenomegalija (Tropska splenomegalija), koja je zabeležena u regionima sa visokom transmisijom. Smatra se da genetski faktori imaju važnu ulogu kod ove komplikacije. Često rezultira hipersplenizmom, uz polikonalnu hipergamaglobulinemiju sa visokim vrednostima IgM u serumu. Uvećana slezina vulnerabilnija je na traumu, a jetra je takođe uvećana. Prateća pancitopenija povećava osetljivost na infekcije.

b. Kvartan nefropatija predstavlja nefrotski sindrom praćen albuminurijom i hipoalbuminurijom, uz različit stepen bubrežnog oštećenja. Javlja se u endemskim regionima, kod ponavljanih infekcija izazvanih *Pl. malarije* i najčešće kod dece. Klinička slika može varirati od asimptomatske proteinurije do razvoja teškog nefrotskog sindroma. Praćena je povišenom temperaturom, anemijom, hepatosplenomegalijom, ređe hematurijom, i obično progredira u bubrežnu insuficijenciju, pri čemu je spontana remisija retka.

c. Burkittov limfom je često udružen sa malarijom. Progresija EBV infekcije u B limfocitima kontrolisana je virus specifičnim citotoksičnim T limfocitima. Ovakav imunološki odgovor značajno opada tokom malarije i predisponira malignu transformaciju.

I 7 TEŠKE FORME MALARIJE

Prema definiciji Svetske zdravstvene organizacije (49) kriterijumi za tešku malariju su:

1. poremećaj svesti (GCS manji od 9) ili koma
2. edem pluća sa prisutnim kriterijumima za ARDS
3. ponavljane generalizovane konvulzije (više od 2, za 24h)
4. cirkulatorni kolaps ili šok (sistolni krvni pritisak manji od 70 mmHg za odrasle)
5. spontana krvarenja i /ili DIK
6. žutica (ukupni bilirubin veći od 50 mikromol/L)
7. teška anemija (Hb manji od 5g/dL)
8. hemoglobinurija
9. hipoglikemija (glikemija manja od 2,2 mmol/l)
10. acidoza (bikarbonati manji od 15 mmol/l), ili acidemija (pH manji od 7.35)
11. hiperlaktatemija (laktati veći od 5 mmol/l)
12. akutno oštećenje bubrega (kreatinin veći od 265 mikromol/L)
13. parazitemija veća ili jednaka 5%
14. ekstremna slabost

Teška forma malarije se javlja kod približno 5% importovanih slučajeva i najčešće je udružena sa falciparum malarijom. Faktori rizika su starije životno doba, ženski pol (naročito ako je udružen sa graviditetom), odsustvo imuniteta, postojanje preegzistentnih oboljenja, nekorišćenje hemoprofilakse i kasno započeto lečenje. Kod teških formi malarije, fatalni ishod nastaje unutar 72h kod nelečenih slučajeva, a mortalitet iznosi 25-50% kod lečenih (49).

I 8 TERAPIJA MALARIJE

Da bi lečenje malarije bilo uspešno, lekar treba da obrati posebnu pažnju na sledeće:

1. Koja je vrsta plazmodijuma u pitanju?
2. Koji je stepen parazitemije?
3. Da li postoji rezistencija i na koje antimalarike, u regionu u kome je malarija stečena?
4. Da li postoje znaci teške malarije?
5. Da li bolesnik može da uzima lekove per os?

Mnogi autori su mišljenja da kod kliničke sumnje na malariju, pri čemu adekvatna laboratorijska dijagnostika nije moguća, treba započeti empirijsku terapiju za *Pl. falciparum* malariju do pristizanja relevantnih nalaza. Lečenje treba započeti odmah, obzirom da malarija koju izaziva *Pl. falciparum* može rapidno progredirati u teško oboljenje, sa mogućim smrtnim ishodom unutar 1-2 dana. Ako za 72 h nema kliničkog odgovora na terapiju, treba nastaviti praćenje parazitološkog pregleda krvi, ali i tragati za nekim drugim uzočnikom povišene temperature (2).

Iako neke studije nisu pokazale značajnu razliku između parenteralne primene kinina i artemizinskih derivata, poslednji izveštaji bazirani na naučnim dokazima naglašavaju važnost zamene kinina u terapiji artesunatom, naročito kod teških formi malarije, a posebno kod dece. Zaključak najnovijih istraživanja je da primena artesunata kod teških formi malarije redukuje broj smrtnih slučajeva za 39% kod odraslih, a za 24% kod dece (50).

Preporuke SZO u terapiji malarije su sledeće: (51)

- Brza parazitološka potvrda, mikroskopski ili brzim dijagnostičkim testom je preporučena za sve bolesnike sa suspektom malarijom pre započinjanja lečenja. Potvrđene slučajeve nekomplikovane falciparum malarije treba lečiti na artemizininu zasnovanim kombinacijama (ABC). Vivaks malariju treba lečiti hlorokinom (početna doza 600 mg, zatim 300 mg nakon 6h, i još dva dana po 300 mg), tamo gde je efikasan, a ABC-om tamo gde postoji rezistencija. Lečenje *Pl. vivax* malarije treba kombinovati sa 14-dnevnom kurom terapije primakinom u dozi od 0,5 mg/ kgTT, max. 30 mg, radi prevencije relapsa.

Artemizinske preparate ne bi trebalo davati kao monoterapiju u lečenju nekomplikovane malarije, jer to stvara značajnu rezistenciju na važnu klasu antimalarika.

- Kod teške falciparum malarije ne koriste se oralni antimalarici, sem u slučaju kada parenteralni nisu dostupni. Tada se može započeti lečenje per os preparatima, ili ako je to moguće dati kinin, artesunat ili artemeter i.m. Ukoliko se primenjuje terapija per os, bolesnici se prate 1 h nakon uzimanja antimalarika, jer se kod povraćanja doza ponavlja.

- Teška falciparum malarija leči se primenom artesunata 2,4 mg/kg tt., iv/im I doza, II i III doza nakon 12, tj. 24 h, a zatim jednom dnevno. Kinin je alternativna terapija u dozi od 20 mg/kg tt iv/im, zatim 10 mg/kg tt svakih 8 h. Lečenje se nakon toga može nastaviti oralnom primenom antimalarika (doksiciklin ili klindamicin).

- Mnogi antimalarici imaju dug poluživot, te dodavanje sličnih lekova može pojačati neželjene efekte, a ne doprinosi ukupnom terapijskom efektu

- Ne prekoračiti maksimalne preporučene doze

- Primakin primeniti u svim slučajevima malarije kao radikalni tretman, sem kada je kontraindikovano (trudnoća i laktacija, odojčad).

Kombinacije antimalarika su najčešće na artemizininu zasnovane kombinacije (ABC) koje poboljšavaju stepen izlečenja, redukuju rezistenciju i rekrudescenciju, a to su:

1. Artesunate+Chloroquine,
2. Artesunate+Amodiaquine,
3. Artesunate+Mefloquine,
4. Artemeter+Lumefantrine (Coartem, Riamet)

Jedna od najčešćih drugih kombinacija je Atovaquone+Proguanil (Malarone).

U SAD su ranijih godina u terapiji teške malarije korišćeni parenteralni kinin i kinidin, koji ispoljava više kardiotoksičnih efekata od kinina, a manifestuju se bradikardijom, hipokaliemijom, hipomagnezemijom, kao i promenama na EKG-u (produženje QT intervala) (52). Zbog ovoga, a imajući u vidu i preporuke SZO, Centar za kontrolu bolesti (CDC) je putem novog istraživačkog protokola lečenja (IND), juna 2007. učinila dostupnim primenu intravenskog artesunata. To se prevashodno odnosi na hospitalizovane pacijente sa malarijom, u slučajevima teške forme oboljenja, visoke parazitemije, nemogućnosti oralnog uzimanja medikamenata, kratkog vremenskog roka za primenu intravenskog kinina/kinidina i zbog intolerancije, kontraindikacija i oštećenja izazvanih kinidinom (53).

Važno je napomenuti da obzirom na visok stepen imunosupresije kod malarije i pojavu sekundarnih bakterijskih infekcija (septikemija, bakterijska pneumonija, meningitis, urinarna infekcija), u terapiju treba uključiti i antibiotike širokog spektra, kao što su npr. cefalosporini III generacije (54).

I 9 HEMOPROFILAKSA

Hemoprofilaksa značajno redukuje oboljevanje od malarije, što se posebno odnosi na teške oblike izazvane *Pl.falciparum*, ali se smatra se da nije potpuno pouzdana i da treba razmotriti mogućnost malarije kod febrilnih bolesnika koji dolaze iz endemskih područja, uprkos podatku o uzimanju hemoprofilakse (55). Podeljena je na:

1. *primarnu* koja podrazumeva uzimanje pojedinačnih doza antimalarika 1-2 sedmice pre odlaska u endemična područja, i 1-4 sedmice posle povratka, i
2. *terminalnu* koja se odnosi na primenu primakina 2 sedmice posle povratka, zbog eradikacije hipnozoita *Pl. vivax/Pl. ovale* (56).

Prevenција malarije zahteva detaljno poznavanje epidemiologije malarije i interakcije domaćin-vektor-parazit. Situaciju komplikuje i odsustvo standardizovanih preporuka, postojanje kontroverzi u smislu kontinuirane profilakse naspram odsustva profilakse, izbor odgovarajućeg medikamenta, i za koje rizične grupe. U nekim zemljama se preporučuje da u slučaju niskog rizika oboljevanja od malarije ne treba uzimati hemoprofilaksu, ali da treba započeti terapiju antimalaricima u slučaju pojave febrilnosti („stand-by” tretman). Poseban problem predstavlja adherentnost osoba koje putuju u endemične krajeve, bilo kao turisti, ili profesionalno, i najšće se manifestuje anksioznošću zbog neželjenih efekata antimalarika koji se koriste u profilaksi (57, 58, 59).

Tabela 1. Lekovi koji se koriste u hemoprofilaksi (prema preporukama SZO) (51)

Lek	Način doziranja
Atovaquone + Proguanil (Malarone)	250 mg + 100 mg 1 tbl.dnevno
Chloroquine (tbl. sa 100 mg baze)	300 mg, 1x sedmično
Proguanil	200 mg dnevno
Doxycycline	100 mg dnevno
Mefloquine (tbl. sa 250 mg baze)	250 mg, 1x sedmično

Tabela 2. Neželjeni efekti lekova koji se koriste u hemoprofilaksi (58)

Lek	Neželjeni efekti
Hlorokin	Mučnina, gastrointestinalni simptomi, promene na retini
Proguanil	Gastrointestinalni simptomi, ulceracije na sluzokoži usta (u kombinaciji sa hlorokvinom)
Meflokin	Neuropsihijatrijski simptomi
Doksiciklin	Ezofagealni simptomi, fotosenzitivnost, gljivične vag. infekcije
Malaron	Gastrointestinalni simptomi, osip
Primakin	Hemoliza kod osoba sa deficitom G6PD*, gastrointestinalni simptomi

* Glukoza- 6- fosfat dehidrogenaza

I 10 VAKCINA

Proteklih godina napravljeni su brojni pokušaji u razvoju vakcine protiv malarije. Sporoziti čine infektivni stadijum parazita malarije i oni su predstavljali idealan "target" buduće vakcine. Mogućnost upotrebe inaktivisanih sporozita je prvi put dokazana 1910. god. kod ptičje malarije. Godine 1983. cirkumsporozitni protein (CSP), glavni površinski antigen sporozita postao je prvi klonirani gen plazmodijuma i vakcina bazirana na CSP-u izgledala je moguća. Daljim istraživanjima razmatrana je mogućnost upotrebe i drugih sporozitnih antigena, kao što su adhezioni protein srodan trombospondinu (TRAP) i glavni antigeni faze koja se odigrava u hepatocitima. Nedavne studije koje su koristile sporozite genetskog inženjeringa sa heterologim CSP pokazale su da imunski odgovor na CSP nije korelirao sa zaštitom. Dominantni,

površinski antigeni stadijuma merozoita, MSP-1 i AMA-1, razmatrani su kao mogući kandidati za vakcinu, a ispitivana je i vakcina usmerena na blokadu stadijuma komarca, delujući na gamete, odnosno zigote ili ookinete (MSTB ili TBV). Glavni cilj ove vakcine je prekid transmisije malarije u populaciji vektora, sprečavanjem razvoja parazita u pljuvačnim žlezdama komarca.

Ipak, mnogo godina nakon prvih pokušaja i dalje nema efikasne vakcine protiv malarije. Iako je klinički imunitet na malariju dosta proučavan kod odraslih osoba koje žive u endemskim, malaričnim regionima, i dalje postoje mnoge nejasnoće u vezi imunskog odgovora domaćina. Sa sigurnošću se zna da paraziti malarije uzrokuju imunospresiju i da kongenitalni imunitet igra glavnu ulogu kod malarije (60, 61).

I 11 MALARIJA I HIV

Uprkos promenama u epidemiologiji HIV infekcije i malarije, i značajnog napretka u njihovoj kontroli, ove bolesti ostaju dve najznačajnije infektivne bolesti i globalni zdravstveni prioriteti. Poslednjih godina se dosta razmatra pitanje efekata malarije na HIV infekciju, i obrnuto, imajući u vidu visoku učestalost ovih oboljenja u svetu, posebno u zemljama sub- Saharske Afrike (62). Smatra se da incidencija malarije nije veća kod HIV inficiranih i da je odgovor na terapiju antimalaricima identičan kod HV pozitivnih i HIV negativnih osoba (63). S druge strane, malarija može povećati rizik od transmisije HIV-a, obzirom na primenu transfuzija kod teške anemije u endemičnim regionima, naročito kod dece i trudnica (64). Malarija ima potentan immunosupresivni efekat, pa se smatra da koinfekcija najverovatnije ubrzava replikaciju HIV-a, što bi mogao biti značajan faktor u potpomaganju širenja HIV infekcije u sub-Saharskoj Africi (65). Uticaj HIV infekcije na malariju pre svega zavisi od imunskog statusa osobe, što bi značilo da HIV infekcija povećava učestalost malarije u korelaciji sa stepenom immunosupresije (66). Dokazano je da neki antimalarici imaju slab antiretrovirusni efekat, a nedavne studije pokazale su da izvesni antiretrovirusni inhibitori proteaze mogu inhibirati rast parazita malarije, što bi moglo imati značajne kliničke i terapijske implikacije (67).

II CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Da se utvrdi učestalost bolesnika u odnosu na vrstu importovane malarije, stepen parazitemije, starost, uzimanje hemoprofilakse, postojanje imuniteta i zemlje u kojima su boravili
2. Da se utvrdi učestalost bolesnika sa importovanom malarijom prema simptomima, znacima bolesti i laboratorijskim parametrima
3. Da se utvrdi korelacija stepena parazitemije sa kliničkim i laboratorijskim parametrima
4. Da se ustanove značajni klinički i laboratorijski parametri kod bolesnika sa hiperparazitemijom(>5%)
5. Da se odredi nivoa citokina TNF- α i IL-6 u dve faze, pre i posle terapije
6. Da se utvrdi korelacija nivoa citokina TNF- α i IL-6 sa hematološkim, biohemijskim i parazitološkim parametrima
7. Da se odredi broj bolesnika sa teškim formama malarije prema kriterijumima SZO, vrsti Plasmodium-a, kao i njihove najučestalije komplikacije
8. Da se ustanovi koje su značajne razlike kod bolesnika sa teškom formom malarije, definisanom prema kriterijumima SZO, u odnosu na ukupan uzorak obolelih

III MATERIJAL I METODE

Istraživanje je obuhvatilo 103 bolesnika sa malarijom lečenih u Klinici za infektivne i tropske bolesti u Beogradu, u periodu od 2000. do 2010. godine i sastojalo se iz prospektivnog i retrospektivnog dela. Retrospektivni deo je uključivao 69 bolesnika lečenih u periodu 2000-2006. godine, dok je prospektivni deo obuhvatao 34 bolesnika lečenih u periodu 2007-2010. godine kod kojih je pored standardnih ispitivanja određivan i nivo citokina TNF- α i IL-6 u serumu.

U istraživanju su korišćeni:

- *anamnestički podaci*, sa posebnim osvrtom na epidemiološke podatke vezane za boravak u endemičnim regionima, ranije oboljevanje od malarije i uzimanje hemoprofilakse.
- *klinički nalazi* kod obolelih (fizikalni pregled)
- *hematološke analize* (krvna slika)
- *biohemijske analize* (određivanje vrednosti glikemije, uree, kreatininina, elektrolita, serumskog gvožđa, proteina, laktata, serumskih transaminaza, enzima holestaze, bilirubina kreatin kinaze, laktat-dehidrogenaze, faktora koagulacije, d-dimera, parametara inflamacije-prokalcitonina, CRP-a)
- *parazitološke analize* (pregled guste kapi i razmaza periferne krvi na parazite malarije, pregled na lajšmanije, filarije, šistozome i tripanozome, pregled stolice na parazite)
- *virusološke analize* (ELISA test za HIV i HCV antitela, HbsAg)
- *imunološke analize* (određivanje koncentracije TNF- α i IL-6)
- *mikrobiološke analize* (Widal-ov test, BAB, koprokultura)
- *radiološke pretrage* (rentgenogram pluća)
- *ehosonografija abdomena* (za ultrazvučno praćenje bolesnika je korišćena abdominalna konveksna sektorska sonda od 3,5 Mhz i "real-time" skener SSD-630 firme "Aloka").

Najvažnija parazitološka analiza koja je korišćena u istraživanju je pregled guste kapi i razmaza periferne krvi na parazite malarije, bojenih po Gimzi. Stepen parazitemije tj. procenat inficiranih eritrocita u krvi pacijenta određivan je metodom mikroskopskog pregleda krvnog razmaza na sledeći način:

1. pod uveličanjem 1000X prebrojati eritrocite u 10 vidnih polja i odrediti njihov srednji broj na jedno polje
2. pod uveličanjem 1000X prebrojati inficirane eritrocite u 10 vidnih polja i odrediti njihov srednji broj na jedno polje
3. parazitemija se dobija iz sledeće formule: $\% (P) = N/M \times 100$

P- parazitemija

N- prosečan broj inficiranih Er u jednom vidnom polju

M- prosečan broj Er u jednom vidnom polju

Parazitemija je rangirana po intervalima:

0: nema parazitemije

1: 0.0001- 0.2%

2: 0.2-2%

3: 2-5%

4: 5-10%

5: >10%

6: prisutni gametociti

Imunološke analize-citokini (TNF- α i IL-6) su rađene u Institutu za Medicinsku biohemiju KCS metodom Quantikine ELISA Kit (R&D Systems). Serumi bolesnika iz prospektivnog dela istraživanja su posle centrifugiranja izdvojeni i čuvani na -70° do momenta rada. Metoda kojom su određivani citokini (TNF- α i IL-6) koristi princip sendvič enzim- imunoesej tehnike (EIA tehnika). Mikroploče (odnosno epruvete) su obložene monoklonskim antitelima specifičnim za TNF- α odnosno IL-6, za koje se vezuje antigen iz uzorka odnosno standarda. Posle ispiranja dodaje se sekundarno antitelo obeleženo enzimom. Višak nevezanog antitela se ispira i dodaje supstrat za enzim. Enzim katalitički konvertuje supstrat u proizvod čija je količina proporcionalna količini antigena u uzorku. Koncentracija TNF- α odnosno IL-6 je proporcionalna intenzitetu boje koja se meri. Senzitivnost tj. minimalna merljiva doza za TNF- α iznosi 1.6pg/ml, a za IL-6 0.70 pg/ml.

Statistička obrada dobijenih podataka je izvršena korišćenjem statističkog programa SPSS (verzija 15.0). U statističkoj obradi su korišćene sledeće metode:

- tabeliranje

- metode deskriptivne statistike: aritmetička sredina- srednja vrednost, standardna devijacija- apsolutna mera varijacije pojedinačnih vrednosti od prosečne vrednosti

- za ordinalne podatke korišćen je Spirmanov koeficijent korelacije: ova metoda korišćena je za utvrđivanje povezanosti kliničkih i laboratorijskih parametara, i povezanosti stepena parazitemije sa kliničkim i laboratorijskim parametrima, za utvrđivanje međusobne povezanosti nivoa citokina (TNF- α i IL-6), kao i njihove povezanosti sa ostalim kliničkim i laboratorijskim parametrima i to u dve faze: u fazi parazitemije, pre započinjanja terapije, i u odsustvu parazitemije, nakon završetka terapije

- za atributivna obeležja je korišćen χ^2 kvadrat test: ova metoda je korišćena za poređenje kliničkih parametara (starosno doba, imunitet, hemoprofilaksa, komplikacije...)

- za numerička obeležja su korišćene jednofaktorska (ANOVA) i multifaktorska analiza varijanse (MANOVA) :

ANOVA je korišćena za poređenje stepena parazitemije (manje i veće od 5) sa kliničkim i laboratorijskim parametrima, kao i za poređenje nivoa TNF- α kod bolesnika sa malarijom u odnosu na kontrolnu grupu

MANOVA je korišćena za poređenje kliničkih, laboratorijskih i imunoloških parametara (TNF- α i IL-6) u teškim formama malarije definisanim prema kriterijumima SZO.

Kolmogorov-Smirnov test i Mann-Whitney test su korišćeni za poređenje nivoa IL-6 kod bolesnika sa malarijom u odnosu na kontrolnu grupu

IV REZULTATI

IV 1 DISTRIBUCIJA BOLESNIKA PREMA KLINIČKIM I LABORATORIJSKIM PARAMETRIMA

U Klinici za infektivne i tropske bolesti u periodu od 2000. do 2010. godine je lečeno 103 bolesnika sa importovanom malarijom. Smrtni ishod nastupio je kod 3 bolesnika (2.91%).

Kod 5 bolesnika (4.85%) sa kliničkom slikom malarije nije dokazano prisustvo parazita malarije, obzirom da su pre prijema u Kliniku za infektivne bolesti lečeni u drugoj ustanovi (jedna bolesnica je lečena u VMA), ili su samoinicijativno uzimali antimalarike.

Tabela 3. Distribucija bolesnika u odnosu na vrstu parazita malarije

Vrsta parazita	Broj bolesnika	Procenat bolesnika (%)
<i>Pl. falciparum</i>	72	73.48
<i>Pl. vivax</i>	18	18.36
<i>Pl. malariae</i>	2	2.04
<i>Pl. ovale</i>	1	1.02
Mixta (<i>Pl. falc.</i> + <i>Pl. vivax</i>)	5	5.10
Mixta (<i>Pl. falc.</i> + <i>Pl. malar.</i>)		
Ukupno	98	100.00

Najveći broj bolesnika, ukupno 73.48%, je lečen od falciparum malarije, odnosno 78.58% , ako se uključi broj bolesnika koji su imali udruženost ovog oblika malarije sa drugim (*Pl.vivax*, *Pl. malariae*), razlika je statistički značajna ($\chi^2=184,551$; $p=0,01$).

Od 103 bolesnika, 92 (89.32%) su bile osobe muškog, a 11 (10.68%) osobe ženskog pola. Prosečna starost bolesnika bila je $46,66 \pm 12,45$, najstariji bolesnik imao je 69 godina, a najmlađi dve godine. Najveći broj bolesnika je starosnog doba 41-60 godina, ukupno 60 (58.26%), razlika je statistički značajna ($\chi^2=60,854$; $p=0,01$).

Tabela 4. Distribucija bolesnika po uzrasnim grupama

Uzrast	Broj bolesnika	Procenat bolesnika (%)
0-10	1	0.97
11-20	1	0.97
21-30	9	8.74
31-40	18	17.47
41-50	28	27.18
51-60	32	31.08
61-70	14	13.59
Ukupno	103	100.00

Prosečno vreme hospitalizacije iznosilo je 9.67 ± 5.45 , a prosečno vreme trajanja simptoma do prijema u bolnicu bilo je 6.70 ± 6.91 . Od 103 bolesnika, veliki broj njih je preležao malariju, ukupno 54 (52.42%), razlika nije statistički značajna ($\chi^2=0.2436,781$; $p=0,622$). Ukupno 75 bolesnika (72.81%) nije uzimalo hemoprofilaksu, razlika je statistički značajna ($\chi^2=3,959$; $p=0,05$).

Kod 22 bolesnika (21.35%) zabeleženo je prisustvo preegzistentnog oboljenja, uključujući značajnija infektivna oboljenja, kao i komplikovanije operativne intervencije.

Tabela 5. Distribucija bolesnika u odnosu na vrstu preegzistentnog oboljenja

Preegzistentno oboljenje	Broj bolesnika	Procenat bolesnika (%)
Hypertensio arterialis	6	27.26
Diabetes mellitus	5	22.72
Hypertensio art.+D.mellitus	2	9.08
Hypertensio art. + CVI	1	4.55
Hypertensio art.+ HOBP	1	4.55
Arrhythmia absoluta	1	4.55
Aorto-bifem. „by-pass“	1	4.55
Epilepsia	1	4.54
TBC pulmonum	1	4.55
Insuff. ren.chr.	1	4.55
HIV infectio	1	4.55
Filariasis	1	4.55
Ukupno	22	100.00

Vidimo da je najveći broj kardioloških bolesnika, ukupno 11 (50%), a zatim dijabetičara 27.27%. Bolesnica koja je imala bubrežnu insuficijenciju dobila je malariju jednim od ređih puteva transmisije, transplantacijom organa (bubrega).

Od ukupnog broja bolesnika, 101 (98.06%) su boravila u zemljama sub-Saharske Afrike, uglavnom Centralne i Zapadne, a samo su dva bolesnika (1.94%) bila u Aziji, odnosno Pakistanu.

Tabela 6. Distribucija bolesnika u odnosu na zemlje u kojima su boravili

Zemlje	Broj bolesnika	Procenat bolesnika (%)
E.Gvineja	37	35.93
Nigerija	17	16.51
Etiopija	16	15.54
Gana	8	7.77
Uganda	5	4.85
Angola	3	2.91
Kongo	3	2.91
Kamerun	3	2.91
Benin	2	1.94
Sijera Leone	2	1.94
Sudan	2	1.94
Gabon	1	0.97
Obala Slonovače	1	0.97
Mali	1	0.97
Pakistan	2	1.94
Ukupno	103	100.00

Najveći broj bolesnika boravio je u Ekvatorijalnoj Gvineji, a zatim slede Nigerija, Etiopija, Gana, Uganda itd., razlika je statistički značajna ($\chi^2=195,398$; $p=0,05$)

Od ukupno 103 bolesnika, za 15 bolesnika (14.56%) nije bilo podataka o stepenu parazitemije (bolesnici iz retrospektivnog dela istraživanja), 5 bolesnika (4.85%) je bilo negativno (oni koji su lečeni), kod jednog bolesnika (0.97%) brzi test (Parasight-F) je bio pozitivan, ali je pregled guste kapi i razmaza periferne krvi bio negativan. Kod 8 bolesnika (7.76%) su parazitološkim pregledom nađeni samo gametociti, a za 74 (71.84%) bolesnika ustanovljen je različit nivo parazitemije.

Tabela 7. Distribucija bolesnika prema vrednostima parazitemije

Vrednosti parazitemije (%)	Broj bolesnika	Procenat bolesnika (%)
0.0001- 0.2	26	35.14
0.2 -2	26	35.14
2-5	9	12.17
5-10	6	8.10
> 10	7	9.45
Ukupno	74	100.00

Najveći broj bolesnika (82.45%) nalazi se u grupi čija je vrednost parazitemije < 5%, razlika je statistički značajna ($\chi^2=31,135$; $p=0,01$).

Svi hospitalizovani bolesnici imali su povišenu temperaturu, a od pratećih simptoma najveći broj broj bolesnika imao je artralgijske i mialgijske, zatim slede glavobolja povraćanje, taman urin, kašalj itd. Gastrointestinalne simptome imalo je 53 bolesnika (54.35%).

Tabela 8. Distribucija bolesnika prema simptomima

Simptomi	Broj bolesnika	Procenat bolesnika (%)
Povišena temperatura	103	100
Artralgijske	68	66.01
Mialgijske	61	59.22
Glavobolja	53	51,45
Povraćanje	34	33.00
Taman urin	23	22,33
Kašalj	15	14.56
Proliv	13	12.62
Bol u abdomenu	9	8.73
CNS	4	3.88
Krvarenje iz desni	1	0.97

Od bolesnika koji su imali simptome vezane za CNS, dva su imala vrtoglavice, jedan diplopije, a jedan bolesnik je kao simptom naveo inverziju sna.

U fizikalnom pregledu, kod najvećeg broja bolesnika registrovana je hepatosplenomegalija, razlika je statistički značajna ($\chi^2=113,968$; $p=0,01$), a zatim slede žutica, neurološke manifestacije i pozitivan asuskultatorni nalaz na plućima.

Tabela 9. Distribucija bolesnika prema znacima bolesti

Znaci bolesti	Broj bolesnika	Procenat bolesnika (%)
Hepatosplenomegalija	76	73.86
Žutica	12	11.65
Neurološke manifestacije	11	10.67
Pozitivan nalaz na plućima	9	8.73

Tabela 10. Distribucija bolesnika prema neurološkim manifestacijama

Manifestacije	Broj bolesnika	Procenat bolesnika (%)
Koma	2	18.18
Fokalni deficit	1	9.09
Somnolencija	2	18.18
Konfuznost	6	54.55
Ukupno	11	100.00

Najveći broj bolesnika je imao blagi kvalitativni poremećaj svesti, ukupno 8 (72.73%), a dva najteža bolesnika su bila u koma.

Tabela 11. Vrednosti laboratorijskih analiza kod bolesnika

Analiza	Prosečna vrednost	SD
Eritrociti *	4.18	0.88
Hemoglobin *	127.71	25.43
Leukociti *	5.76	2.52
Trombociti *	100.11	60.85
Glikemija	6.63	1.95
Ureja *	7.23	6.48
Kreatinin *	117.77	100.77
K	4.01	0.44
Na *	137.45	4.08
AST *	47.99	37.05
ALT *	50.75	38.77
Bilirubin *	30.72	60.85
AF	73.56	32.33
GGT	51.09	53.39
PV *	78.57	15.11
PTT	38.09	8.07
SE *	32.88	21.88
Fibrinogen *	4.52	1.49
LDH *	640.05	458.82
CK	230.86	552.63
Proteini *	65.43	8.07
Fe *	8.22	6.31
TIBC	45.11	9.93
Holesterol	3.63	1.40
Trigliceridi	2.65	1.74

* Označeni parametri su statistički analizirani

Trombocitopenija je registrovana kod 81.55% bolesnika i naznačajnija je laboratorijska abnormalnost ($\chi^2=41.019$; $p=0,01$), leukopenija kod 25.24%, a sniženje hemoglobina kod 35.92%. Povišene vrednosti LDH ustanovljene su kod 57.14%, AST/ALT kod 51.96 %, odnosno 43.13%, bilirubina kod 33.67%, i fibrinogena kod 59.55 % bolesnika.

Hipoproteinemiju je imalo 34.88%, hiponatriemiju 22.22%, a hipoferemiju 79.48% bolesnika.

IV 2 KORELACIJA KLINIČKIH I LABORATORIJSKIH PARAMETARA

Klinički i laboratorijski parametri analizirani su Spirmanovom korelacijom ranga i dobijeni su sledeći rezultati:

Tabela 12. Korelacija broja trombocita

Trombociti	R	p
Bilirubin	-0.464 **	0,000
Proteini	0.447 **	0.000
LDH	-0.445 **	0.000

Jačina veze je označena na sledeći način:

* slaba veza

** jaka veza

*** izuzetno jaka veza

Postoji jaka korelacija između trombocitopenije i hipoproteinemije, hiperbilirubinemije i povišene vrednosti LDH.

Tabela 13. Korelacija vrednosti hemoglobina

Hemoglobin	R	p
Proteini	0.604 **	0.000
LDH	-0.299 *	0.010
Na	0.248 *	0.013

Niske vrednosti hemoglobina su u jakoj korelaciji sa hipoproteinemijom, a slaboj sa hiponatriemijom i povišenim vrednostima LDH.

Tabela 14. Korelacija vrednosti LDH

LDH	R	p
Bilirubin	0.415 **	0.000
Proteini	-0.470 **	0.000

Povišenje LDH je u jakoj korelaciji sa hiperbilirubinemijom i hipoproteinemijom.

Tabela 15. Korelacija uzročnika malarije

Plasmodium falciparum	R	p
Imunitet	-0.302 *	0,002
LDH	0.272 *	0,025

Kod bolesnika koji nisu preležali malariju češće je prisutna falciparum malarija, ova vrsta malarije je u slaboj korelaciji sa povišenim vrednostima LDH.

Tabela 16. Korelacija imuniteta

Imunitet	R	p
Trombociti	0.238 *	0,015
AST	-0.247 *	0,012
ALT	-0.203 *	0,040

Bolesnici koji su preležali malariju imali su veće vrednosti trombocita i niže vrednosti serumskih transaminaza.

Tabela 17. Korelacija kliničkih parametara u odnosu na trajanje simptoma

Trajanje simptoma	R	p
Artalgije	-0.216 *	0,029
Mijalgije	-0.222 *	0,025
HSM	0.211 *	0,033
Povraćanje	0.225 *	0,023

Bolesnici čiji su simptomi duže trajali, češće su od tegoba navodili povraćanje, ređe artralgijske i mialgijske, i češće su imali hepatosplenomegaliju.

Tabela 18. Korelacija neuroloških komplikacija

Neurološke komplikacije	R	p
Parazitemija	0.357 *	0,001
LDH	0.297 *	0,011
Tr	-0.299 *	0,002
Povraćanje	0.237 *	0,016
Bilirubin	0.386 *	0,000
Proliv	0.257 *	0,009
Proteini	-0.257 *	0,017
Ureja	0.288 *	0,003

Neurološke komplikacije kod bolesnika korelirale su sa stepenom parazitemije, pojavom gastrointestinalnih manifestacija, povišenim vrednostima uree, bilirubina i LDH.

Ova grupa bolesnika češće je imala trombocitopeniju i hipoproteinemiju.

Od 103 bolesnika, kod 87 (84.46%) je rađen RTG pluća. Pozitivan nalaz je registrovan kod 9 bolesnika (10.34%). Sedam bolesnika (77.77%) imalo je bronhopneumoniju, kod jednog su registrovani znaci pleuritisa, a kod drugog promene koje odgovaraju ARDS-u.

Tabela 19. Korelacija radiografskog nalaza na plućima

RTG pluća	R	p
Tr	-0.228 *	0,033
AST	0.236 *	0,029
ALT	0.262 *	0,015
Kašalj	0.281 *	0,008

Vidimo da postoji korelacija između pozitivnog RTG nalaza i povišenih vrednosti serumskih transaminaza, kao i da su promene na plućima povezane sa stepenom tromobocitopenije.

IV 3 KORELACIJA PARAZITEMIJE SA KLINIČKIM I LABORATORIJSKIM PARAMETRIMA

Tabela 20. Korelacija parazitemije sa ostalim parametrima

Parazitemija	R	p
Tr	-0.604 **	0,000
LDH	0.432 **	0,000
Hb	-0.296 *	0,008
Bilirubin	0.396 *	0,000
Proteini	-0.355 *	0.003
Natrijum	-0.273 *	0.016
Neurološke komplikacije	0.357 *	0,001

Stepen parazitemije je u jakoj korelaciji sa trombocitopenijom i povišenim vrednostima LDH, dok je slaba korelacija utvrđena za hipoproteinemiju, hiponatriemiju, hiperbilirubinemiju, niske vrednosti hemoglobina i pojavu neuroloških komplikacija.

Sem navedenih varijabli u univarijantnu analizu varijanse (ANOVA) uključeni su i drugi klinički i biohemijski parametri od značaja za procenu njihove udruženosti sa hiperparazitemijom. Pri tome, bolesnici su podeljeni u dve grupe :

1. bolesnici koji su imali parazitemiju $\geq 5\%$
2. bolesnici koji su imali parazitemiju $< 5\%$.

Tabela 21. Rezultati univarijantne analize (ANOVA) za hiperparazitemiju

Parazitemija	F	Sig.
Profilaksa	0.126	0.728
Imunitet	0.882	0.362
Er	0.043	0.839
Hb	0.066	0.800
Thr	0.234	0.636
Bilirubin	9.304	* 0.008
Proteini	0.737	0.404
PV(%)	0.004	0.949
Na	2.513	0.134
Fe	0.018	0.896
LDH	0.503	0.489
Neurološke komplikacije	3.824	* 0.069
Hepatosplenomegalija	0.126	0.728
RTG pluca	0.059	0.812
D-dimer (1)	0.063	0.805

Analiza je pokazala da bolesnici sa parazitemijom $\geq 5\%$ imaju značajno veće vrednosti bilirubina i češću pojavu neuroloških komplikacija ($p < 0.1$)

Laboratorijski parametri (Tr, LDH, Hb, Na, proteini) koji su prema Spirmanovoj korelaciji ranga bili povezani sa stepenom parazitemije, prema rezultatima univarijantne analize nisu bili statistički značajni kod bolesnika kod kojih je parazitemija veća od 5%.

IV 4 VREDNOSTI CITOKINA (TNF- α i IL-6) I NJIHOVA KORELACIJA SA KLINIČKIM I I LABORATORIJSKIM PARAMETRIMA

U prospektivnom delu istraživanja koje je uključivalo 34 bolesnika uzeti su citokini: TNF- α i IL-6, u dve faze, odmah po prijemu bolesnika i nakon završetka terapije antimalaricima, kada je parazitemija bila negativna.

Tabela 22. Vrednosti citokina u prvoj (1) i drugoj (2) fazi

Vrsta citokina	Prosečna vrednost (pg/ml)	SD
TNF- α (1)	21.03	17.39
IL- 6 (1)	31.70	39.25
TNF- α (2)	5.17	3.59
IL- 6 (2)	7.46	6.32

Tabela 23. Vrednosti kontrola za TNF- α (1) i IL-6 (1)

Vrsta citokina	Prosečna vrednost (pg/ml)	SD
TNF- α	5.73	2.38
IL- 6	3.92	2.19

ANOVA testom dokazali smo da je kod bolesnika u prvoj fazi došlo do povećanja TNF- α , $p=0.027$. Na osnovu dobijenih prosečnih vrednosti i SD za IL-6 kod bolesnika u prvoj fazi, testirana je normalnost raspodele Kolmogorov-Smirnov testom i dobijeno da je $p=0.047$, što znači da raspodela nije normalna i da je neophodno primeniti neparametrijski test. Testiranjem Mann-Whitney testom dobijena je statistički značajna razlika $p=0.006$, tj. da su vrednosti IL-6 povećane u prvoj fazi (Mann-Whitney U test=42).

ANOVA testom nije dokazana statistički značajna razlika u vrednostima TNF- α ($p=0.974$) i IL-6 ($p=0.827$) između dve faze, tj. pre i posle terapije.

Dopunski laboratorijski parametri su takođe uzeti u obe faze radi korelacije i praćenja dinamike sa vrednostima citokina.

Tabela 24. Vrednosti dopunskih laboratorijskih parametara (faza 1)

Lab. parametri	Prosečna vrednost	SD
Prokalcitonin	7.66.	13.32
D-dimer	765.36	917.01
AT3	85.55	18.01
Laktati	1.33	0.61
CRP	114.41	84.88

Vrednosti prokalcitonina, d-dimera i CRP- a su u prvoj fazi povišene, dok su vrednosti AT3 i laktata u referentnom opsegu.

Tabela 25. Vrednosti dopunskih laboratorijskih parametara (faza 2)

Lab. parametri	Prosečna vrednost	SD
D-dimer	211.40	142.16
AT3	100.32	13.76
Laktati	1.52	0.69
CRP	49.43	116.03

U drugoj fazi došlo je do smanjenja vrednosti kod laboratorijskih parametara prve faze, d-dimera i CRP-a. Vrednosti AT3 i laktata su povećane, ali u okviru referentnog opsega.

Obzirom da su kod bolesnika dobijene povišene vrednosti prokalcitonina, jednog od markera sistemskog inflamatornog odgovora, izvršena je njegova korelacija sa ostalim laboratorijskim parametrima i citokinima u prvoj fazi .

Tabela 26. Korelacija prokalcitonina sa drugima laboratorijskim parametrima i citokinima

Prokalcitonin	R	p
SE	(***) 0.755	0.001
CRP	(**) 0.622	0.013
Tr	(**) -0.573	0.025
Hb	(**) -0.530	0.042
Proteini	(**) -0.584	0.028
Bilirubin	(**) 0.699	0.004
AT3	(**) -0.612	0.020
TNF α	(**) 0.563	0.029

Povećanje vrednosti prokalcitonina najviše korelira sa povećanjem sedimentacije, a nešto slabije sa povećanjem TNF- α , CRP-a i bilirubina. Nasuprot tome, povećane vrednosti prokalcitonina koreliraju sa trombocitopenijom, hipoproteinemijom i sniženjem vrednosti hemoglobina i AT3.

Tabela 27. Korelacija TNF- α u prvoj fazi (1)

TNF-α (1)	R	p
IL6-1	(***) 0.805	0,000
Starost	(**) 0.408	0,017
Parazitemija	(**) 0.551	0,001
Prokalcitonin	(**) 0.563	0,029
D-dimer	(**) 0.595	0,000
LDH	(**) 0.459	0,006
Le	(**) -0.533	0,001
Tr	(**) -0.510	0,002
Fe	(**) -0.456	0,025
AT3	(**) -0.486	0,005
Hb	(*) -0.378	0,028

Ustanovljena je izuzetno jaka korelacija između TNF- α i IL-6 u prvoj fazi (1). Povišene vrednosti TNF- α su u jakoj korelaciji sa starijim dobom, stepenom parazitemije, povišenim vrednostima prokalcitonina, d-dimera i LDH. S druge strane, vrednosti TNF- α su u negativnoj korelaciji sa brojem trombocita i leukocita, vrednostima serumskog gvožđa, antitrombina i hemoglobina.

Tabela 28. Korelacija IL-6 u prvoj fazi (1)

IL -6 (1)	R	p
Parazitemija	(**) 0.429	0,014
D-dimer	(**) 0.532	0,001
Laktati	(**) 0.444	0.0012
Le	(*) -0.339	0,050
Tr	(*) -0.380	0,027
IL6-2	(*) 0.402	0,034
Starost	(*) 0.349	0,043

Povišene vrednosti IL-6 su u jakoj korelaciji sa stepenom parazitemije, povišenim vrednostima d-dimera i vrednostima lakatata. Negativna korelacija dokazana je za trombocitopeniju i leukopeniju. Za razliku od TNF- α , povišene vrednosti IL-6 slabije koreliraju sa starosnim dobom.

Za vrednosti TNF- α u prvoj i drugoj fazi (1 i 2) nije utvrđena korelacija, dok vrednosti IL-6 slabo koreliraju u ove dve faze. Za razliku od jake korelacije između TNF- α i IL-6 u prvoj fazi (R=0.805, p=0.000), u drugoj fazi je nađena slaba korelacija između ovih parametara, koja nije statistički značajna (R= 0.331, p =0.08).

Tabela 29. Korelacija TNF- α u drugoj fazi (2)

TNF- α (2)	R	p
Tr (2)	(**) -0.472	0,015

Vrednosti TNF- α u drugoj fazi su u jakoj korelaciji sa brojem tromobocita, smanjenje vrednosti TNF- α udruženo je sa porastom broja trombocita.

Tabela 30. Korelacija IL-6 u drugoj fazi (2)

IL -6 (2)	R	p
D-dimer (2)	(**) 0.531	0.006

Vrednosti IL-6 u drugoj fazi su u jakoj korelaciji sa vrednošću d-dimera, smanjenje IL-6 udruženo je sa smanjenjem vrednosti d-dimera.

Možemo zaključiti da u prvoj fazi, pre započinjanja terapije, TNF- α i IL-6 više koreliraju sa laboratorijskim parametrima iste faze.

IV5 TEŠKE FORME MALARIJE PREMA KRITERIJUMIMA SZO

Prema navedenim kriterijumima SZO za teške forme malarije formirana je grupa od 22 bolesnika (21.35%). Najveći broj bolesnika (90.92%) je imao malariju izazvanu *Pl. falciparum*, pri čemu je kod jednog bila udružena sa *Pl. vivax*, razlika je statistički značajna ($\chi^2=44.182$; $p=0,01$).

Tabela 31. Distribucija bolesnika sa teškom formom malarije prema vrsti uzročnika

Vrsta plazmodijuma	Broj bolesnika	Procenat bolesnika (%)
<i>Pl. falciparum</i>	19	86.38
<i>Pl. flaciparum</i> + <i>vivax</i>	1	4.54
<i>Pl. vivax</i>	1	4.54
<i>Pl. ovale</i>	1	4.54
Ukupno	22	100.00

Tabela 32. Distribucija bolesnika sa teškom formom malarije prema broju kriterijuma

Broj kriterijuma SZO	Broj bolesnika	Procenat bolesnika (%)
1	13	59.10
2	4	18.19
3	3	13.63
4	1	4.54
5	1	4.54
Ukupno	22	100.00

Ukupno 13 bolesnika (59.10%) je imalo jedan kriterijum za tešku malariju, dok je njih 9 (40.90%) imalo dva ili više kriterijuma. Kod bolesnika koji je imao 5 kriterijuma došlo je do letalnog ishoda.

Tabela 33. Distribucija komplikacija prema kriterijumima SZO

Kriterijumi SZO	Broj komplikacija	Procenat komplikacija (%)
Cerebralna malarija	3	7.69
Edem pluća/ARDS	2	5.12
Bubrežna insuficijencija	4	10.26
DIK	1	2.56
Žutica	11	28.21
Anemija	7	17.95
Hemoglobinurija (CMG)	1	2.56
Parazitemija	10	25.65
Ukupno	39	100.00

Žutica je bila najučestalija komplikacija (28.21%), razlika je statistički značajna ($\chi^2=22,744$; $p=0,05$), a zatim slede hiperparazitemija, anemija, bubrežna insuficijencija, cerebralna malarija, edem pluća/ARDS, dok su se hemoglobinurija (CMG) i DIK javile kod dva bolesnika.

Prosečna starost kod teških bolesnika bila je 43.68 ± 14.57 , a prosečno vreme trajanja simptoma do prijema u bolnicu 7.23 ± 5.25 . Preegzistentno oboljenje imalo je 3 bolesnika (13.63%), hemoprofilaksu je koristilo 5 (22.72%), a 11 bolesnika (50%) je preležalo malariju. Broj trombocita < 50.000 imao je 14 bolesnika (63.63%). Prosečna vrednost TNF- α (1) iznosila je 31.91 ± 20.39 , a IL-6 (1) 36.50 ± 49.68 .

Sve navedene varijable uključene su u multivarijantnu analizu varijanse (MANOVA) i dobijeni su sledeći rezultati:

Tabela 34. Multivarijantna analiza (MANOVA) za teške forme malarije

Varijable	F	Sig.
Starost	0.480	0.494
Profilaksa	1.691	0.203
Imunitet	0.843	0.366
Preegzistentna oboljenja	0.148	0.703
Trajanje simptoma	0.034	0.855
TNF- α (1)	5.793	* 0.022
IL-6 (1)	0.150	0.701
Tr	4.101	* 0.052

Analiza je pokazala da bolesnici sa teškom formom malarije, definisanom prema kriterijumima SZO, imaju značajno više vrednosti TNF- α (1) i niže vrednosti trombocita ($p < 0.1$).

Kod naših bolesnika starost, nekorisćenje hemoprofilakse, duže trajanje simptoma do početka lečenja, prisustvo imuniteta i preegzistentnih oboljenja nisu značajno uticali na težinu malarije. Vrednosti IL-6 (1) nisu bile značajno povišene u odnosu na vrednosti kod lakših bolesnika.

IV6 DOPUNSKE VIRUSOLOŠKE, BAKTERIOLOŠKE I PARAZITOLOŠKE ANALIZE

U okviru dopunskih ispitivanja rađene su virusološke, bakteriološke i parazitološke analize koje su u najvećem broju slučajeva bile negativne, sem nešto veće učestalosti pozitivnog Widal testa.

Tabela 35. Virusološke, bakteriološke i parazitološke analize

Vrsta analize	Broj bolesnika *	% bolesnika	Broj poz. nalaza
Anti- HIV	77	74.75	** 1
HBsAg	73	70.87	1
Anti- HCV	72	69.90	0
Widal	55	53.39	12
Koprokulture	58	56.31	0
Paraziti u stolicima	55	53.39	*** 3
Brucele	34	33.00	0
Lajšmanije	33	32.03	0
Filarije	8	7.76	0
Šistozome	3	2.91	0
Tripanozome	1	0.97	0

* Broj bolesnika kod kojih je rađena analiza

** Bolesnica kod koje je nađeno da je Anti-HIV pozitivna imala je 136 CD4 limfocita/mm³, nakon izlečene malarije nastavljeno je dalje praćenje u Odeljenju za HIV infekciju.

*** U sva tri slučaja pozitivnog parazitološkog pregleda stolice radilo se o *Blastocystis hominis*.

IV 7 TERAPIJA MALARIJE

U lečenju falciparum malarije najšesće su korišćene kombinacije antimalarika, na bazi artemizininskih preparata, uglavnom se radilo o artemeteru.

Tabela 36. Terapija malarije izazvane *Pl. falciparum*

Vrsta antimalarika	Broj bolesnika	Procenat bolesnika (%)
Artemizininski preparati + meflokin	35	48.62
Artemizininski preparati+ fansidar	14	19.45
Artemizininski preparati+ kinin	4	5.56
Artemizininski preparati (monoterapija)	6	8.34
Artemeter+lumefantrin	6	8.34
Meflokin (monoterapija)	2	2.77
Fansidar (monoterapija)	2	2.77
Meflokin+fansidar	1	1.38
Kinin (monoterapija)	2	2.77
Ukupno	72	100.00

Bolesnici koji su imali udruženost falciparum malarije sa malarijom izazvanom *Pl. vivax* ili *Pl. malariae* (ukupno 5) lečeni su takođe kombinacijom artemizininskih preparata sa jednim od sledećih antimalarika: meflokinom, hlorokinom ili fansidarom.

Tabela 37. Terapija malarije izazvane *Pl. vivax*

Vrsta antimalarika	Broj bolesnika	Procenat bolesnika (%)
Artemizininski preparat+ hlorokin	3	16.68
Artemizininski preparat+ primakin	2	11.11
Artemizininski preparat+ fansidar	1	5.55
Artemizininski preparat+ hlorokin+ primakin	3	16.68
Artemizininski preparat+ meflokin+ primakin	1	5.55
Artemizininski preparat+ fansidar+ primakin	2	11.11
Hlorokin+primakin	2	11.11
Hlorokin + fansidar	2	11.11
Hlorokin (monoterapija)	1	5.55
Primakin (monoterapija)	1	5.55
Ukupno	18	100.00

Ukupno 12 bolesnika (66.68%) je dobijalo artemizininske preparate jer se radilo o osobama koje su boravile u endemskim regionima gde je zabeležena rezistencija na hlorokin. Ukupno 11 bolesnika (61.11%) primilo je primakin radi prevencije relapsa malarije.

Tabela 38. Terapija malarije izazvane *Pl. malariae* i *Pl. ovale*

Vrsta uzročnika	Broj bolesnika	Vrsta antimalarika
<i>Pl. malariae</i>	2	Artemeter + hlorokin/ lumefantrin
<i>Pl. ovale</i>	1	Artemeter+meflokin+primakin

Bolesnici koji su imali malariju izazvanu *Pl. ovale* ili *Pl. malariae* (ukupno 3) lečeni su kombinacijom artemizininskih preparata sa jednim od sledećih antimalarika: meflokinom, hlorokinom ili lumefantrinom.

Kod bolesnika sa negativnom parazitemijom, koji su prethodno lečeni, ili samoinicijativno uzimali antimalarike, nastavljena je terapija artemizininskim preparatima, u kombinaciji sa meflokinom/lumefantrinom, jedan bolesnik je primio samo primakin.

Ukupno 57 bolesnika (55.33%) je sem pomenutih kombinacija antimalarika dobijao i dovicin odnosno doksiciklin, a dva bolesnika su primala klindamicin.

Zbog pratećih infekcija, pre svega promena na plućima, a imajući u vidu i visok stepen imunosupresije koji se javlja kod malarije, 35 bolesnika (33.98%) je dobijao antibiotike širokog spektra. Uglavnom su primenjivani cefalosporini III generacije (ceftriaxon).

Eksangvinotranfuzija je sprovedena kod 3 bolesnika (2.91%), a 15 bolesnika (14.56%) je primilo transfuzije, najčešće se radilo o nadoknadi eritrocita.

V DISKUSIJA

U periodu od 2000. do 2010. godine u Klinici za infektivne i tropske bolesti KCS je lečeno 103 bolesnika sa importovanom malarijom. Razlika u broju obolelih slučajeva godišnje u odnosu na okolne zemlje nije velika, 2000. godine je u Bugarskoj prijavljeno 4 slučaja malarije, Mađarskoj 7, Grčkoj 21 i Rumuniji 24. S druge strane, u nekim evropskim zemljama registrovan je znatno veći broj obolelih, u Nemačkoj je iste godine prijavljeno 540, a u V. Britaniji 1548 slučajeva importovane malarije (9).

U ovom istraživanju, stopa smrtnosti je iznosila 2.91%, prema podacima drugih autora stopa mortaliteta varira od 0.6 do 3.8% (68, 69). U studiji rađenoj u Nemačkoj, takođe u periodu od 11 godina, stopa mortaliteta je iznosila 1.5% (70), dok je prema istraživanju Instituta „Robert Koh“ (Berlin) koje je obuhvatalo veći broj bolesnika sa malarijom, bila 3% (71). Prema podacima CDC-a za 2009., stopa mortaliteta je u SAD iznosila 1% (72).

Najveći broj bolesnika imao je malariju izazvanu *Pl. falciparum* (73.49%), što je u skladu sa podacima iz Rumunije, Belgije, Španije i Italije (73, 74, 75, 76, 77). Zastupljenost pojedinih oblika malarije prema istraživanju autora iz Italije u periodu 1991-1995. godine, pokazuje skoro istovetnu distribuciju obolelih prema vrsti plazmodijuma, s tim što je procenat mixta malarije bio nešto niži (77). Prema izveštaju iz Evrope za 2006. godinu, prijavljen je nešto veći broj slučajeva falciparum malarije (88%), dok je broj falciparum malarija u SAD i Japanu niži u odnosu na slučajeve izazvane *Pl. vivax*, verovatno zbog blizine endemskih regiona gde se ova vrsta malarije češće sreće (7, 9, 72).

Jedan od bolesnika imao je malariju izazvanu *Pl. vivax*, nastalu nakon transplantacije bubrega u Pakistanu. U SAD je takođe 2007. prijavljen slučaj malarije nastao putem transplantacije organa u istom regionu (7).

Prosečna starost bolesnika bila je 46.46 godina, s tim što je značajno veći broj (58.24%) pripadao starosnom dobu od 41-60. U istraživanju rađenom u Francuskoj dobijeni su slični podaci (78), mada je generalno u Evropi najviše obolelih od importovane malarije u uzrastu 24-44 godine (9). Pretpostavljamo da je starost populacije obolelih u ovom istraživanju u vezi sa profesijom, obzirom da većina nije

putovala turistički, već se nakon izvesnog radnog iskustva odlučivala za privremeni rad u nekom od endemskih područja.

Obzirom da je skoro 45% bolesnika bilo starije od 50 godina, kod približno petine od ukupnog broja registrovana su preegzistentna oboljenja. Najčešće su bila zastupljena kardiološka, približno 10% od ukupnog broja bolesnika, odnosno 50% u odnosu na sva ostala oboljenja, uz predominaciju arterijske hipertenzije.

Prosečno vreme trajanja simptoma do prijema u bolnicu bilo je 6.7 dana, što je za većinu bolesnika i vreme postavljanja dijagnoze. Kod malog broja bolesnika dijagnoza je postavljena u Infektivnom odeljenju nadležnog Zdravstvenog centra. Ovaj podatak je u skladu sa istraživanjima drugih autora, s tim što je ovo vreme duže u slučajevima teških formi malarije (10, 78, 79). Samo podaci autora iz SAD govore da je za njihove bolesnike period do utvrđivanja dijagnoze malarije kraći, moguće da je razlog tome postojanje većeg broja referentnih laboratorija u kojima se postavlja dijagnoza malarije (80).

Prema rezultatima ovog istraživanja, bolesnici koji su se kasnije javljali lekaru, značajno češće su od simptoma navodili povraćanje, ređe artralgijske i mialgijske, a hepatosplenomegalija je kod njih registrovana u većem broju.

Veliki broj bolesnika je preležao malariju (52.42%), za razliku od podataka drugih autora (78), moguće da je razlog tome što značajan broj nije koristio hemoprofilaksu (72.81%). Podaci iz drugih zemalja su vrlo homogeni u odnosu na primenu antimalarika u preventivne svrhe, sa izuzetkom pojedinih istraživanja koja govore da je samo 2.5% obolelih uzimalo hemoprofilaksu, ili čak 56% od ukupnog broja slučajeva malarije (81, 82, 83, 84, 85). Mnoga istraživanja pokazala su značaj adekvatne antimalarične hemoprofilakse, koja zajedno sa ostalim preventivnim merama i promptnom dijagnozom rezultira kumulativnim protektivnim efektom u sprečavanju oboljevanja i smrtnosti od malarije za osobe koje putuju u endemične regione (86).

Najveći broj bolesnika boravio je u zemljama sub-Saharske Afrike (98.06%), sa značajno većim brojem obolelih iz E.Gvineje (35.92%). Prema podacima evropskih autora, ovo područje Afrike je i za njihove bolesnike predstavljalo rizik za oboljevanje od malarije, naročito u odnosu na falciparum malariju (76, 79, 87, 88, 89).

U ovom istraživanju broj bolesnika sa parazitemijom manjom od 5% je značajno veći, mada i procenat bolesnika sa hiperparazitemijom nije zanemarljiv

(17.56%), naročito ako se poredi sa rezultatima drugih autora (83, 90). Nekoliko bolesnika kod kojih se radilo o falciparum malariji imalo je ekstremno visoku parazitemiju od 75, 55, 50 i 32%.

Prema rezultatima Spirmanove korelacije ranga, trombocitopenija, anemija, hiperbilirubinemija, hipoproteinemija, hiponatriemija, povišene vrednosti LDH i pojava neuroloških komplikacija su bili u jačoj ili slabijoj korelaciji sa stepenom parazitemije. Međutim, kada smo izdvojili bolesnike čija je parazitemija bila $\geq 5\%$, i ove varijable uključili u univarijantnu analizu nije dobijeno toliko značajnih razlika između ove grupe i grupe bolesnika čija je parazitemija bila < 5 . Naime, grupa bolesnika sa hiperparazitemijom je imala značajno višu bilirubinemiju i češću pojavu neuroloških komplikacija. Istraživanja autora iz Indije takođe pokazuju značajnu udruženost hiperparazitemije i hiperbilirubinemije (90). Idro i autori (91), u studiji koja je obuhvatala približno 20 hiljada dece obolele od malarije u Keniji, nalaze da je hiperparazitemija faktor rizika za pojavu neuroloških komplikacija, koje su kod dece relativno česte, a prema podacima ovih autora bile su prisutne kod čak 47.6% obolelih.

Odsustvo hemoprofilakse i imuniteta, postojanje hepatosplenomegalije i patoloških promena na plućima takođe nisu bili značajno udruženi sa hiperparazitemijom. Očigledno da je hiperparazitemija samo jedan od faktora rizika za pojavu teških formi malarije. Mnoga istraživanja su pokazala da niska parazitemija ne isključuje mogućnost komplikacija i može biti prisutna kod teških slučajeva malarije (10). Treba naglasiti da je i uzorak bolesnika sa hiperparazitemijom u našem istraživanju relativno mali, što smanjuje mogućnost značajnog uticaja većeg broja drugih varijabli.

Svi bolesnici iz ovog istraživanja imali su povišenu temperaturu, što je vodeći simptom kod obolelih od malarije i u drugim evropskim zemljama i SAD (80, 82, 89).

Veliki broj obolelih navodi kao simptom artralgijske i mialgijske (66% odnosno 59%), zatim sledi glavobolja (51.45%), koju i ostali autori navode kao čestog pratioca malarije (82, 84, 89, 90). Ono što je zajedničko za sva istraživanja, uključujući i ovo, je da nema podataka o tome koliko često je glavobolja bila prisutna u afebrilnom periodu, odnosno u kom obimu je samo „pratila“ povišenu temperaturu. Gastrointestinalne tegobe (proliv i povraćanje) imalo je 54.35% bolesnika, s tim što je učestalost povraćanja (33%) kod obolelih od malarije veća u odnosu na podatke iz drugih zemalja

(80, 82, 89). Bolove u abdomenu je navelo 8.7% bolesnika, kao i 8.2% od 122 bolesnika registrovanih tokom osam godina u istraživanju nemačkih autora (82). Ovaj simptom navelo je i 6.6% obolelih prema studiji iz SAD (80). Kašalj je češće prisutan simptom (14.56%) u odnosu na obolele od importovane malarije iz Evrope i SAD (80, 89). Moguće da je uzrok tome veći broj pušača u našoj populaciji, ali podaci o ovom faktoru rizika nisu bili dostupni.

U fizikalnom nalazu kod bolesnika najčešće je prisutna hepatosplenomegalija (73.86%). Prema istraživanju sprovedenom u Singapuru taj procenat je 62.5%, a u Indiji čak 93.3% (83, 90). Pojava žutice je u skladu sa podacima drugih autora (80, 82).

Podaci o pojavi neuroloških komplikacija dosta variraju, prema istraživanju Jelineka i autora iz evropskih zemalja, koje je obuhvatalo 1659 bolesnika u periodu 1999-2000., njihova učestalost je samo 1.9% (89). Poremećaj sensorijuma prisutan je kod značajno više obolelih od malarije u Indiji – 46.6% (90), pri čemu do sada nijedna studija nije razmatrala u kojoj meri febrilne epizode, naročito one izazvane sa *Pl. falciparum* mogu uticati na pojavu neurokognitivnih poremećaja (92). Simptome vezane za CNS je navelo 3.88% naših bolesnika (vrtoglavicu, diplopije, inverziju sna), pri čemu je objektivno ustanovljeno više neuroloških komplikacija (10.67%). One su se manifestovale blažim kvalitativnim poremećajima svesti, postojanjem fokalnog deficita, a dva bolesnika su već na prijemu u bolnicu bila u komatoznom stanju. Prema ovim rezultatima, neurološke manifestacije su značajno korelirale sa pojavom gastrointestinalnih simptoma (povraćanje, proliv), sa stepenom parazitemije, kao i sa trombocitopenijom, hiperbilirubinemijom, hipoproteinemijom, povišenim vrednostima uree i LDH. Newton i autori opisuju kod bolesnika sa *falciparum* malarijom i neurološkim komplikacijama čestu pojavu glavobolje i povraćanja, pri čemu poremećaj sensorijuma, znaci iritabilnosti, nemir, inverzija sna i promene u ponašanju mogu biti inicijalne manifestacije cerebralne malarije kao najteže neurološke komplikacije (93). Autori iz Indije su kod obolelih od cerebralne malarije ustanovili korelaciju CT nalaza sa drugim komplikacijama, pre svega hemolizom, oštećenjem bubrega, trombocitopenijom, lezijom jetre, ARDS-om, pri čemu nisu utvrdili povezanost CT promena sa stepenom parazitemije (94).

U većini istraživanja vezanim za malariju, utvrđeno je da je trombocitopenija najčešća laboratorijska abnormalnost i smatra se da predstavlja glavni pokazatelj prisustva malarije kod febrilnih bolesnika iz endemskih područja (31,95). Prema rezultatima ovog istraživanja, trombocitopenija je zabeležena kod 81.55% bolesnika, što je statistički značajna razlika u odnosu na vrednosti drugih laboratorijskih tj. hematoloških parametara. Po podacima autora iz Melburna ovaj procenat je nešto niži, a prema nekim studijama dostiže i 95% (84, 89). Trombocitopenija je prema ovom istraživanju značajno korelirala sa hiperbilirubinemijom i povišenim vrednostima LDH, tj. sa parametrima hemolize. Kod bolesnika sa trombocitopenijom su takođe značajno češće radiografski verifikovane patološke promene na plućima.

Povišenje LDH je u značajnom broju prisutno kod bolesnika sa malarijom (57.14%), kao i hiperbilirubinemija (33.67%). Za povišene vrednosti LDH dokazana je značajna korelacija sa hipoproteinemijom i anemijom, pri čemu su bolesnici sa falciparum malarijom imali više vrednosti LDH u odnosu na ostale vrste malarije. Anemija je registrovana kod 35.92% bolesnika, što je u skladu sa podacima drugih autora (10, 68, 96). Prema podacima grupe autora iz Kanade (68), broj leukocita $< 5.0 \times 10^9$ imalo je 47.5% obolelih, rezultati ovog istraživanja pokazuju da nešto više od 50% bolesnika ima broj leukocita < 5.0 , a kod 25.24% je taj broj manji od 4.0×10^9 . Povišena aktivnost serumskih transaminaza je viša (51.96/43.13%) u odnosu na vrednosti kod obolelih od malarije iz drugih zemalja (10, 68).

Obzirom da nismo registrovali postojanje virusa kao etiološkog faktora kod značajnog broja bolesnika, pretpostavljamo da je dodatni faktor koji je uticao na povišenu vrednost ovih parametara bio etilizam, imajući u vidu karakteristike populacije obolelih (muški pol, starosno doba, dugotrajni boravak van svog prebivališta i dr.). Treba napomenuti da je povišena aktivnost serumskih transaminaza češće bila prisutna kod bolesnika sa pozitivnim radiografskim nalazom na plućima.

Prosečna vrednost glikemije bila je nešto veća od referentne vrednosti, pri čemu ni kod teških formi nije registrovana hipoglikemija. Hipoglikemija nije zabeležena ni kod drugih autora (68). Podaci iz ovog istraživanja pokazuju da približno 7% bolesnika boluje od dijabetesa, sem toga, kod većine je glikemija određivana u različitim vremenskim terminima nakon prijema u bolnicu, što bi moglo objasniti njene veće vrednosti.

Uloga citokina u patogenezi malarije do sada je jasno potvrđena, ali ne u potpunosti razjašnjena. Smatra se da veliki broj faktora utiče na njihov nivo, koji u toku malarije zavisi i od cirkadijalnog ritma, te se u skladu sa tim pojavljuju velike varijacije nivoa citokina u serumu (TNF- α , IL-4, IL-6, IFN) (97). Dokazano je da su kod bolesnika sa malarijom, naročito kod teških formi, povećane koncentracije proinflamatornih citokina, od kojih je najviše proučavan TNF- α (98, 99).

Povećanje koncentracije TNF- α u malariji prvi put je zabeleženo 1986. godine (100). Kwiatkowski i autori (101) su 1989. god. dokazali značajno povećanje nivoa TNF- α kod dece obolele od malarije u Gambiji. Sem toga, zaključili su da je njegovo oslobađanje kao potentnog endogenog pirogena, paroksizmalno i masivno u momentu simultane rupture kritičnog broja šizonata, a u prisustvu mononuklearnih ćelija već spremnih za produkciju TNF- α .

Smatra se da TNF- α ima plejotropne antimalarijske efekte i da ovaj protektivni efekat zavisi od interakcije različitih faktora, kao što su monociti/makrofagi, limfociti i antitela, u sprezi sa drugim ćelijama i molekulima (102). Ovakva uloga citokina mogla bi biti od značaja u planiranju budućih imunoloških tretmana malarije koji bi sprečili milione smrtnih slučajeva kod budućih generacija (103). Izgleda da se produkcija TNF- α razlikuje kod osoba u pojedinim endemičnim regijama koje su izložene istoj vrsti parazita i istom stepenu inokulacije. U tom smislu, pretpostavlja se da je najznačajnije područje kontrole produkcije TNF- α na nivou gena (104). TNF- α se pojavljuje kao najznačajniji u ranom imunskom odgovoru, kao i kasnijim patološkim manifestacijama. Dokazano je da njegova koncentracije reguliše i nivoe drugih citokina, što se posebno odnosi na IL-6 (105). Time bismo mogli objasniti i rezultate ovog istraživanja po kome je nivo TNF- α u većem stepenu korelirao sa drugim laboratorijskim parametrima u odnosu na IL-6, posebno ako se uzmu u obzir parametri koji ukazuju na teže forme oboljenja (anemija, trombocitopenija, visoke vrednosti laktat dehidrogenaze).

Rezultati pokazuju značajno povišenje TNF- α i IL-6 u prvoj fazi, kod evidentirane parazitemije i pre dejstva antimalarične terapije. Pri tome postoji izuzetno jaka korelacija između nivoa TNF- α i IL-6 u prvoj fazi i njihova značajna povezanost sa stepenom parazitemije. Njihovu međusobnu koordinaciju i udruženost sa stepenom parazitemije nalaze i mnogi drugi autori kod bolesnika sa malarijom (106, 107, 108, 109). Prema podacima studije iz Hamburga (110) povišenje TNF- α i IL-6 zabeleženo je

pretežno kod bolesnika sa falciparum malarijom, pri čemu su koncentracije TNF- α i IL-6 korelirale sa stepenom parazitemije, anemijom, hipoglikemijom, hiperbilirubinemijom i bubrežnom insuficijencijom, što je u skladu sa rezultatima ovog istraživanja. Studija iz Pakistana pokazala je skoro identične rezultate kod falciparum malarije, ali nije utvrđena povezanost sa stepenom parazitemije (111). Istraživanje koje je sprovedeno u Maliju, kod dece sa falciparum malarijom, pokazalo je značajno povišenje nivoa citokina kod obolelih, uključujući TNF- α i IL-6, ali nije dokazana korelacija hiperparazitemije i anemije sa povećanim koncentracijama IL-6 (96).

Kod prikazanih bolesnika povećanje nivoa citokina je u jačoj (TNF- α), ili slabijoj (IL-6) korelaciji sa starosnim dobom. Autori iz Pakistana navode da se koncentracija TNF- α kod dece obolele od falciparum malarije povećavala sa uzrastom, dok kod odraslih nije bilo razlike (110). Istraživanja pokazuju da se sa starenjem povećava koncentracija inflamatornih medijatora u serumu/plazmi, kao što su citokini i proteini akutne faze. Nivoi cirkulišućih citokina TNF- α i IL-6 su udruženi sa oboljevanjem i smrtnošću u starosti, i smatra se da mogu izazvati ili pogoršati faktore rizika u patološkim stanjima vezanim za starost (112, 113). Dokazana je i direktna uloga TNF- α u patogenezi ateroskleroze, dijabetes melitusa tipa II i Alchajmerove bolesti. Nivo cirkulišućih IL-6 je izgleda snažan faktor rizika za pojavu tromboembolijskih komplikacija kod starijih osoba, a udružen je sa povećanom produkcijom TNF- α . Smatra se da u relativno zdravoj populaciji starijih, povećanje nivoa cirkulišućih IL-6 predstavlja sistemski odgovor na lokalne, proinflamatorne aktivnosti, međutim, kad inflamatorne bolesti vezane za starost progrediraju, nivo TNF- α u cirkulaciji se povećava, čime on postepeno postaje jači marker morbiditeta od IL-6 (114).

Povećani nivoi TNF- α i IL-6 koreliraju sa trombocitopenijom i povišenim vrednostima d-dimera, s tim što je korelacija TNF- α sa trombocitopenijom, a IL-6 sa povišenim vrednostima d-dimera, prisutna u obe faze, tj. pre i posle terapije, što je u skladu sa patofiziološkim mehanizmima koji se odvijaju u toku ovog oboljenja. Naime, aktivacijom sistema koagulacije dolazi do pojave FDP, tj. d-dimera u cirkulaciji, što se sreće i kod malarije, pretežno one izazvane *Pl. falciparum*. Pokretanje koagulative kaskade i fibrinolitičkog sistema je izazvano parazitiranim eritrocitima i/ili aktiviranim trombocitima (115, 116, 117). Parazitirani eritrociti adheriraju na kapilarni endotel izazivajući dalju aktivaciju čiji je rezultat potrošnja trombocita i aktivacija koagulacije

koja može kulminirati pojavom DIK-a. IL-6 stimuliše trombocite, što se manifestuje povećanom aktivacijom trombina i povećanom prokoagulantnom aktivnošću, a markeri koagulacije detektuju promene kao odgovor na dejstvo TNF- α (118).

U prvoj fazi ustanovili smo jaku povezanost nivoa TNF- α i AT3, koji je često sniženih vrednosti kod falciparum malarije, naročito kod težih oblika. Ovakvi rezultati su očekivani kada se ima u vidu patofiziološki mehanizam u kome produkcija citokina i parazitirani eritrociti uzrokuju potrošnju AT3 (115, 116). U studiji bolesnika sa falciparum malarijom, autori iz Austrije su takođe ustanovili sniženje AT3 i njegovu korelaciju sa nivoom proinflammatoryh citokina kod teških formi oboljenja (119).

Istraživanja pokazuju da alteracije TNF- α i AT3 koreliraju značajno sa težinom bolesti i stepenom parazitacije, kao i da se održavaju nakon završetka antiparazitarne terapije (119). Za razliku od korelacije TNF i AT3, u prvoj fazi registrovali smo korelaciju povišenog nivoa IL-6 sa povećanjem vrednosti laktata. Pojedini autori takođe nalaze povezanost povećane koncentracije IL6 i IL-10 sa laktatima, pre započinjanja terapije antimalaricima (107), dok je kod drugih utvrđena korelacija TNF- α i IL-1 sa laktatima (120).

Sarthou i autori su dokazali pad koncentracije TNF- α i IL-6 nakon završetka antimalarične terapije (121). Prema rezultatima ovog istraživanja, prosečne vrednosti TNF- α i IL-6 su u drugoj fazi znatno niže u odnosu na vrednosti pre početka terapije, ali razlika u vrednostima nije statistički značajna. Vremenski razmak između određivanja koncentracije citokina, pre i posle terapije, tj. u vreme prisustva ili odsustva parazitacije, iznosio je u proseku 7 dana, ali je za neke bolesnike taj period bio manji. Naime, to su bolesnici koji su samoinicijativno uzimali antimalarike, pa je i vreme lečenja bilo kraće. Otuda najverovatnije proizilazi disproporcija u nivou citokina u odnosu na period pre i posle terapije, on je snižen kod svih bolesnika nakon terapije, ali ne u podjednako meri.

Obzirom da je dokazano da su kod malarije povišene vrednosti prokalcitonina, jednog od markera sistemskog inflamatornog odgovora (122, 123, 124), u grupi bolesnika kod kojih je određivan nivo citokina, uzet je i ovaj parametar. Povećanje vrednosti prokalcitonina je najviše koreliralo sa povećanjem sedimentacije, a nešto slabije sa povećanjem TNF- α , CRP-a i bilirubina. Nasuprot tome, povećane vrednosti prokalcitonina bile su povezane sa trombocitopenijom, hipoproteinemijom i sniženjem vrednosti hemoglobina i AT3. Ovakvi rezultati dokazuju njegovu ulogu u sistemskoj

inflamaciji, a s druge strane ukazuju na njegovu ulogu kod težih formi malarije koje prati anemija, trombocitopenija, hiperbilirubinemija itd. Podaci drugih autora takođe govore u prilog povezanosti nivoa TNF- α i IL-6 sa prokalcitoninom (124), ali i prokalcitonina sa nivoom parazitemije (125).

Generalno se smatra da nema dovoljno podataka o teškoj importovanoj malariji izazvanoj *Pl. falciparum* u razvijenim zemljama gde bolest nije endemska, obzirom da mnoge studije uključuju relativno mali broj obolelih (126). Rezultati ovog istraživanja pokazuju da je prema navedenim kriterijumima SZO, tešku formu malarije imalo 21.35% bolesnika, nešto više od petine ukupnog broja, pri čemu je skoro 60% bolesnika imalo jedan kriterijum, dok su ostali imali dva ili više kriterijuma. Prema podacima drugih autora, broj teških formi malarije varira od 1-38% od ukupnog broja obolelih (16, 78, 127). U studiji Nacionalnog instituta za Infektivne bolesti u Rimu (73) u uzorku od 445 slučajeva malarije bilo je 11.6 % teških oblika, dok je u istraživanju 551 slučajeva falciparum malarija iz iste zemlje, u periodu 1991-1995. godine, bilo znatno manje teških formi – 4.7% (77). Varijacije u broju teških formi najbolje reprezentuju sledeći podaci: prema studiji iz Toronta taj broj je 7.5% (68), prema podacima CDC-ja, 2007. godine u SAD kliničke komplikacije malarije su zabeležene kod 23.8% obolelih, od kojih je 15.9% klasifikovano u teške forme malarije (7). U V. Britaniji je tokom 16-ogodišnjeg praćenja, prema kriterijumima SZO, 16% bolesnika imalo tešku formu malarije (128). U Nemačkoj je utvrđeno 27.9% teških formi, uglavnom se radilo o falciparum malariji (82).

Značajno veći broj teških bolesnika u ovom istraživanju (91%) je imao malariju izazvanu *Pl. falciparum*, što je slučaj i kod drugih autora, mada su neke od nedavnih studija prikazale teške forme malarije izazvane *Pl. vivax*, tzv. „falciparum like“ sindrom (129, 130, 131, 132, 133). U Indoneziji je npr. u periodu 2004-2007. godine registrovano 22% teških oblika malarije, od kojih je veći broj bio izazvan *Pl. vivax* (134).

Žutica je bila značajno najučestalija komplikacija, zatim slede hiperparazitemija, anemija, bubrežna insuficijencija, cerebralna malarija, edem pluća/ARDS, dok su se hemoglobinurija (CMG) i DIK javile kod dva bolesnika.

Prema istraživanju autora iz Španije i Nemačke, hiperbilirubinemija i hiperparazitemija su takođe najčešće komplikacije (10, 82). Multicentrična studija iz

Azije koja je obuhvatala 1050 bolesnika sa malarijom (127) pokazala je da je hiperparazitemija česta komplikacija. Najčešće komplikacije koje su dovele do smrtnog ishoda kod obolelih od malarije u SAD, u periodu 1963-2001. godine su cerebralna malarija, bubrežna insuficijencija, ARDS, anemija i DIK. Pojava crnomokraćne groznice je registrovana samo kod jednog bolesnika, što je slučaj i u ovom istraživanju (80).

Mnoge studije pokazale su da je starost faktor rizika za pojavu teških formi malarije (70, 135, 136), dok neki autori nisu dokazali značajne razlike u odnosu na starost (137, 138). Prosečna starost teških bolesnika u ovom istraživanju nije visoka, približno 44 godine, što je verovatno razlog da starije životno doba nije bilo značajno za pojavu komplikacija.

Drugi najčešće pominjani faktor rizika za pojavu teških formi malarije je odsustvo hemoprofilakse (70, 139), kao u studiji iz Instituta „Robert Koh“ koja je pokazala da su nekorišćenje hemoprofilakse i starost faktori rizika za teške oblike (71). Veliko istraživanje rađeno u Francuskoj u periodu 1996-2003. godine, koje je obuhvatalo rezultate iz 120 referentnih laboratorija analiziranih u Nacionalnom Centru za importovanu i autohtonu malariju, pokazalo je udruženost pojave komplikacija sa starošću, odsustvom hemoprofilakse i dužinom trajanja simptoma do postavljanja dijagnoze (126). U ovom istraživanju uzorak bolesnika je dosta manji u odnosu na prethodno navedena, pa je broj bolesnika sa teškim i lakšim formama malarije koji su uzimali hemoprofilaksu približno isti. Hemoprofilaksu nisu koristili u dovoljnom broju ni jedni ni drugi bolesnici, što bi moglo objasniti njen mali značaj u pojavi komplikacija.

Prosečno vreme trajanja simptoma do prijema u bolnicu i započinjanja terapije, kod teških formi malarije, takođe se nije mnogo razlikovalo u odnosu na ostale, te samim tim nije bilo od uticaja na tok bolesti.

Odsustvo stečenog imuniteta nije bio faktor rizika za razvoj komplikacija, verovatno zato što je približno isti broj u obe grupe bolesnika preležao malariju. Francuski autori takođe ne nalaze udruženost ovog faktora sa teškim formama malarije (140). Dosadašnja istraživanja pokazuju da je kongenitalni imunitet od većeg značaja za malariju, a da stečeni zavisi od dugoročne izloženosti parazitima malarije, tj. efikasan prirodni imunitet je uglavnom ograničen na područja visoke endemičnosti (141).

Prema rezultatima ovog istraživanja bolesnici sa teškom formom malarije, definisanom prema kriterijumima SZO, imaju značajno više vrednosti TNF- α i niže vrednosti trombocita u odnosu na druge bolesnike sa malarijom. Retrospektivna studija (1996-2003.) Univerzitetske bolnice u Hajdelbergu (82), kojom je obuhvaćeno 122 bolesnika sa falciparum malarijom, pokazala je da su trombocitopenija i anemija značajni prediktori za pojavu komplikacija malarije, a to su rezultati istraživanja i drugih autora (77, 128).

Mnoge studije pokazuju povećanje koncentracije TNF- α i IL-10 kod hiperparazitemije i teških oblika falciparum malarije (25, 142), kao i značajnu povezanost nivoa TNF- α i IL-6 sa hiperparazitemijom, žuticom i bubrežnom insuficijencijom, kao parametrima teških formi ovog oboljenja (17). Neka istraživanja ukazuju na povezanost povećanog nivoa TNF- α sa pojavom neuroloških komplikacija, pre svega cerebralne malarije, dok je kod drugih ustanovljen povišen nivo TNF- α , IL-6 i IL-10 kod teških oblika malarije, ali ne i kod cerebralne malarije (143).

U ovom istraživanju, za razliku od značajno povećanog nivoa TNF- α kod bolesnika sa teškom formom malarije, vrednosti IL-6 se nisu značajno razlikovale u odnosu na ostale.

Fernandes i autori iz Brazila su ustanovili povećane nivoe citokina kod malarije, uključujući i TNF- α , ali se oni nisu mnogo razlikovali kod bolesnika sa falciparum i vivaks malarijom. Iako se zna da je patogeneza komplikacija multifaktorijelna, pretpostavili su da je slična koncentracija u produkciji citokina, između ostalog, bio razlog niske incidencije teških formi malarije (96). Istraživanje autora iz Turske koje je uključivalo slučajeve vivaks malarije pokazalo je povećanje nivoa citokina, uključujući i IL-6. Međutim, nivo IL-6 nije značajno korelirao sa stepenom parazitemije i težinom bolesti, sugerišući da su lakše forme oboljenja i ređe komplikacije vivaks malarije u odnosu na falciparum malariju verovatno povezane sa produkcijom citokina (102).

Prema rezultatima ovog istraživanja, virusološke, bakteriološke i parazitološke analize su u najvećem broju slučajeva bile negativne, sem pozitivnog Widal testa kod 12 bolesnika (21.8%). Ovaj test nije specifičan i limitirane je dijagnostičke vrednosti pre svega zbog svojih mnogobrojnih unakrsnih reakcija, uključujući i antigene parazita malarije (144). Studija od 96 bolesnika sa malarijom, od kojih je 66 imalo falciparum, a 30 vivaks malariju, pokazala je pozitivan Widal test kod 14.58% za salmonela „0“ i

10.41% za salmonela „H“ titar (145). Test može biti pozitivan kod osoba koje su preležale trbušni tifus, ili koje su prethodno imunizovane antigenima Salmonelle, a moguća je i unakrsna reakcija sa drugim vrstama Salmonela, kao i drugim enterobakterijama (E. Coli npr.) (146). Kod jednog bolesnika smo ustanovili HBV, a kod jedne bolesnice HIV infekciju sa 136 CD4 imfocita/mm³.

Što se tiče ostalih parazitarnih infekcija, u samo tri slučaja pregledom stolice nađen je Blastocystis hominis. Poslednjih godina više studija je pratilo koinfekciju malarije i drugih parazita, helminata pre svega. Rezultati studija su različiti, ali je veći broj njih pokazao da neke od nematoda, kao što je Ascaris, imaju protektivnu ulogu za malariju, dok druge, kao što je Ancilostoma, povećavaju incidenciju malarije. Protektivno dejstvo objašnjava se raznim mehanizmima, ali jedan od njih govori u prilog povećanja IgE antitela, koja oslobađanjem IL-10, aktiviraju azot oksid sintazu, koja putem azot oksida redukuje sekvestraciju parazita (147).

Kod bolesnika su, u lečenju falciparum malarije najšestije korišćene kombinacije antimalarika na bazi artemizininskih preparata. Artemizininski derivati su najbrže delujući i najpotentniji antimalarici. Njihovi farmakodinamski efekti su udruženi sa brзом apsorpcijom i aktivnošću u odnosu na mnoge faze životnog ciklusa parazita malarije, od mladih, aseksualnih formi (ring oblici) do ranih, seksualnih formi (gametociti). Njihov polu-život je kratak što ih štiti od rezistencije, oni redukuju gametonoštvo i infektivnost, i imaju odličnu toleranciju (148).

U najvećem broju slučajeva, skoro 50% bolesnika sa falciparum malarijom, primenjivana je kombinacija artemizininskih preparata sa meflokinom, u nešto manje slučajeva, približno 20%, kombinacija sa fansidarom. Kinin je primalo samo 6 bolesnika. Bolesnici koji su imali udruženost falciparum malarije sa malarijom izazvanom *Pl. vivax* ili *malariae*, lečeni su takođe kombinacijom artemizininskih preparata sa nekim drugim antimalarikom (meflokin, hlorokin ili fansidar).

Prema svim protokolima, uključujući pre svega preporuke SZO, glavni lekovi u terapiji falciparum i hlorokin rezistentnih vivaks malarija su na artemizininu zasnovane kombinacije antimalarika (ABC). Koncept ovakve terapije baziran je na sinergističkom dejstvu dva ili više lekova, što povećava terapijsku efikasnost i smanjuje rezistenciju prema pojedinačnim komponentama kombinacija (149, 150). One su već više od 10 godina glavni tretman u lečenju malarije u Jugoistočnoj Aziji, kao i većini ostalih

zemalja (151). Njihov značaj je pre svega u tome što je u svetu sve veći porast hlorokin rezistentnih parazita malarije (152). Američki autori takođe smatraju da su artemizininski preparati najefikasniji antimalarici, ali da njihov kratak polu-život može dovesti do pojave rekrudescencije nakon terapije, sugerišući time neophodnost primene kombinovane terapije da bi se u potpunosti iskoristio potencijal ove klase antimalarika. Kombinacija artemizininskih preparata sa dugo delujućim antimalarikom na koji nije zabeležena rezistencija predstavlja optimalni antimalarični agens, što se odnosi na kombinacije sa sulfadoksinom/pirimetaminom (fansidar), lumefantrinom i naročito meflokinom (150,153). Tako je prema mnogim istraživanjima kombinacija artemizininskih preparata i meflokina pokazala njihovu bezbednost, visoku efikasnost i dobru toleranciju u terapiji nekomplikovane falciparum malarije (154, 155, 156).

U terapiji teških formi malarije, smatra se da su lekovi izbora artemizininski preparati, pre svega parenteralni artesunat (157), mada se u nekim zemljama još uvek koristi kinin (158). D. G. Laloo i autori navode da je intravenski kinin dihidrohlorid prvi antimalarik za lečenje teških formi malarije u V. Britaniji, obzirom da artemizininski preparati nisu licencirani u EU. Ipak, intravenski artesunat je dostupan specijalizovanim Centrima za tropske bolesti ako se radi o specifičnim slučajevima malarije (parazitemija veća od 20%, veoma teška forma oboljenja, oboljenja kardiovaskularnog sistema za koja je terapija kininom rizična, pacijenti sa falciparum malarijom koja je rezistentna na kinin i dr.) (159).

U terapiji malarije izazvane *Pl. vivax* korišćen je hlorokin, ali je više od dve trećine bolesnika dobijalo i artemizininske preparate jer su boravili u endemskim regionima gde je zabeležena rezistencija na hlorokin. Približno isti broj bolesnika primio je primakin radi prevencije relapsa malarije. U lečenju malarije izazvane *Pl. vivax* hlorokin je i dalje lek izbora, ako se izuzmu regioni u kojima je zabeležena rezistencija, a koristi se i u hemoprofilaksi (158).

Obzirom da paraziti u kriptobiotičkoj fazi, tzv. dormanti ili hipnozoiti, perzistiraju u jetri i nakon lečenja malarije izazvane *Pl. vivax* i ovale, jedini efikasan lek za njihovu eradikaciju je primakin (160). Britanski autori predlažu veću dozu primakina (30 mg dnevno) umesto uobičajene (15mg dnevno), u trajanju od 14 dana, za prevenciju relapsa ovih vrsta malarije ako su stečene u J. Aziji (159).

U terapiji malarije izazvane *Pl. ovale/malariae* takođe su korišćene kombinacije artemizininskih preparata i drugih antimalarika.

Više od polovine bolesnika je sem pomenutih kombinacija antimalarika dobijao tetracikline (dovicin/doksiciklin) ili klindamicin. Uprkos sporoj aktivnosti antibakterijskih jedinjenja kao lekova protiv malarije, neki od njih kao što su tetraciklini i klindamicin su već jasno potvrđeni kao efikasni antimarični agensi (150).

Kod bolesnika sa negativnom parazitemijom koji su prethodno lečeni, ili samoinicijativno uzimali antimalarike, nastavljena je terapija artemizininskim kombinacijama antimalarika (ABC). Treba naglasiti da je samoinicijativno uzimanje antimalarika jedan od glavnih uzroka razvoja rezistencije (161). Takav tretman može suprimirati parazitemiju, izmeniti morfologiju parazita, ali ga ne može potpuno eliminisati (162). S tim u skladu, kada je reč o malariji, mnogi autori su mišljenja da se treba pridržavati sledećih preporuka (80):

- ako se postavi sumnja na malariju, a dijagnoza ne može biti potvrđena, mora se započeti davanje antimalarika prema protokolu lečenja falciparum malarije
- bolesnik se ne sme vratiti bez ordinirane terapije, hospitalizovati ga ako za to postoji potreba
- pregledi krvi se ponavljaju ako simptomi perzistiraju, a nije reč o drugom oboljenju.

VI ZAKLJUČCI

1. Značajno veći broj bolesnika je imao malariju uzrokovanu Plasmodium-om falciparum, parazitemiju manju od 5%, starosnog je doba 41- 60 godina, nije uzimao hemoprofilaksu i boravio je u zemljama sub-Saharske Afrike. Veliki broj bolesnika je preležao malariju, ali razlika nije statistički značajna
2. Svi bolesnici su imali povišenu temperaturu, a zatim slede artralgijske, mialgijske i glavobolje, u fizikalnom nalazu značajno češće nalazimo hepatosplenomegaliju, dok je trombocitopenija najčešća laboratorijska abnormalnost
3. Stepen parazitemije je u značajnoj korelaciji sa trombocitopenijom, povišenim vrednostima LDH, anemijom, hipoproteinemijom, hiponatrijemom, hiperbilirubinemijom i prisustvom neuroloških komplikacija.
4. Bolesnici sa hiperparazitemijom (>5%) imaju značajno veće vrednosti bilirubina i češću pojavu neuroloških komplikacija
5. U prvoj fazi (pre započinjanja terapije) značajno je povišen nivo citokina TNF- α i IL-6, dok je u drugoj fazi (nakon završetka terapije) nivo citokina snižen, ali razlika nije statistički značajna.
6. Ustanovljena je jaka korelacija povišenih nivoa citokina TNF- α i IL-6 sa stepenom parazitemije, povišenim vrednostima d-dimera i laktata, leukopenijom i trombocitopenijom
7. Prema kriterijumima SZO, tešku formu malarije imalo je 21.35% bolesnika. Značajno veći broj bolesnika imao je falciparum malariju, a žutica je bila najučestalija manifestacija
8. Bolesnici sa teškom formom malarije, definisanom prema kriterijumima SZO, imaju značajno više vrednosti TNF- α i niže vrednosti trombocita

VII LITERATURA

1. Hay SI, Guerra CA, Tatem AJ, Noor AM, Snow RW. The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future. *Lancet Infect Dis* 2004;4(6):327-36.
2. Griffith KS, Lewis LS, Mali S, Parise ME. Treatment of malaria in the United States: a systematic review. *JAMA* 2007;297:2264-77
3. William T, Menon J, Rajahram G, Chan L, Ma G, Donaldson S, Khoo S, Frederick C, Jelip J, Anstey NM, Yeo TW. Severe Plasmodium knowlesi malaria in a tertiary care hospital, Sabah, Malaysia. *Emerg Infect Dis* 2011;17(7):1248-55.
4. Daneshvar C, Davis TM, Cox-Singh J, Rafa'ee MZ, Zakaria SK, Divis PC, Singh B. Clinical and laboratory features of human Plasmodium knowlesi infection. *Clin Infect Dis* 2009;49(6):852-60.
5. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Simian malaria in a U.S. traveler – New York, 2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58(9):229-32.
6. Cox-Singh J, Davis TM, Lee KS, Shamsul SS, Matusop A, Ratnam S, Rahman HA, Conway DJ, Singh B. Plasmodium knowlesi malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. *Clin Infect Dis* 2008;46(2):165-71.
7. Mali S, Kachur SP, Arguin PM; Division of Parasitic Diseases and Malaria, Center for Global Health; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Malaria surveillance – United States, 2010. *MMWR Surveill Summ* 2012;61(2):1-17.
8. Suh KN, Kain KC, Keystone JS. Malaria. *CMAJ* 2004;170:1693-702.
9. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe 2009.
10. González A, Nicolás JM, Muñoz J, Castro P, Mas J, Valls ME, Coma JR, Aibar J, Gascon J. Severe imported malaria in adults: retrospective study of 20 cases. *Am J Trop Med Hyg* 2009;81(4):595.
11. Popović B, Mikić D, Zeljković J, Čekanac R, Vidanović M. Malarija u srpskoj vojsci na Solunskom frontu sa posebnim osvrtom na početak epidemije polovinom 1916. godine. *Opšta medicina*. 2008;14(1-2):37-44.
12. World Health Organisation. World malaria report 2010. WHO Press 2010

13. Croft AM. Malaria: prevention in travellers. *Clin Evid* 2010; 2010. pii: 0903.
14. Breman JG, Alilio MS, Mills A. Conquering the intolerable burden of malaria: what's new, what's needed: a summary. *Am J Trop Med Hyg* 2004;71(2 Suppl):1-15.
15. Breman JG, Holloway CN. Malaria surveillance counts. *Am J Trop Med Hyg* 2007;77(6 Suppl):36-47.
16. Trampuz A, Jereb M, Muzlovic I, Prabhu RM. Clinical review: Severe malaria. *Crit Care* 2003;7:315-23.
17. Day NP, Hien TT, Schollaardt T, Loc PP, Chuong LV, Chau TT, Mai NT, Phu NH, Sinh DX, White NJ, Ho M. The prognostic and pathophysiologic role of pro- and antiinflammatory cytokines in severe malaria. *J Infect Dis* 1999;180(4):1288-97.
18. Shingadia D, Ladhani S. UK treatment of malaria. *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2011;96:87-90.
19. Clark IA, Alleva LM, Mills AC, Cowden WB. Pathogenesis of malaria and clinically similar conditions. *Clin Microbiol Rev* 2004;17(3):509-39.
20. Platelets reorient Plasmodium falciparum-infected erythrocyte cytoadhesion to activated endothelial cells. Wassmer SC, Lépolard C, Traoré B, Pouvelle B, Gysin J, Grau GE. *J Infect Dis* 2004;189(2):180-9.
21. Silamut K, Phu NH, Whitty C, Turner GD, Louwrier K, Mai NT, Simpson JA, Hien TT, White NJ. A quantitative analysis of the microvascular sequestration of malaria parasites in the human brain. *Am J Pathol* 1999;155(2):395-410.
22. Clark IA, Budd AC, Alleva LM, Cowden WB. Human malarial disease: a consequence of inflammatory cytokine release. *Malar J* 2006;5:85.
23. Kwiatkowski D, Hill AV, Sambou I, Twumasi P, Castracane J, Manogue KR, Cerami A, Brewster DR, Greenwood BM. TNF concentration in fatal cerebral, non-fatal cerebral, and uncomplicated Plasmodium falciparum malaria. *Lancet* 1990;336(8725):1201-4.
24. Esmon CT. Possible involvement of cytokines in diffuse intravascular coagulation and thrombosis. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol* 1999;12(3):343-59.
25. Jennings RM, DE Souza JB, Todd JE, Armstrong M, Flanagan KL, Riley EM, Doherty JF. Imported Plasmodium falciparum malaria: are patients originating from disease-endemic areas less likely to develop severe disease? A prospective, observational study. *Am J Trop Med Hyg* 2006;75(6):1195-9.

26. Angulo I, Fresno M. Cytokines in the pathogenesis of and protection against malaria. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002;9(6):1145-52.
27. CDC Malaria Atlanta. CDC;2010. Available from <http://www.cdc.gov/malaria>.
28. Dorsey G, Gandhi M, Oyugi JH, Rosenthal PJ. Difficulties in the prevention, diagnosis, and treatment of imported malaria. *Arch Intern Med* 2000;160:2505-10.
29. Pasvol G. The treatment of complicated and severe malaria. *Br Med Bull* 2006;75-76:29-47.
30. Christ-Crain M, Schuetz P, Huber AR, Müller B. Procalcitonin – importance for the diagnosis of bacterial infection. *Ther Umsch* 2008;65(9):559-6
31. D'Acremont V, Landry P, Mueller I, Pécoud A et al. Clinical and laboratory predictors of imported malaria in an outpatient setting: an aid to medical decision making in returning travelers with fever. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 66:481-6.
32. Moody A. Rapid Diagnostic Tests for Malaria Parasites. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15(1): 66–78.
33. Arora S, Gaiha M, Arora A. Role of the Parasight-F test in the diagnosis of complicated *Plasmodium falciparum* malarial infection. *Braz J Infect Dis* 2003;7(5):332-8.
34. Bouchaud O, Houzé S, Longuet C, di Piazza JP, Ruggieri C, Sécardin Y, Coulaud JP, Le Bras J. Use of the Parasight-F diagnostic test for imported malaria in a travel clinic. *Am J Trop Med Hyg* 2000;63(1-2):76-9.
35. Murray CK, Gasser RA Jr, Magill AJ, Miller RS. Update on rapid diagnostic testing for malaria. *Clin Microbiol Rev* 2008;21(1):97-110.
36. Roe JK, Pasvol G. New developments in the management of malaria in adults. *QJM* 2009;102:685-93.
37. Gilles H.M. The differential diagnosis of malaria. In *Malaria. Principles and practice of malariology* (Wernsdorfer W.H., McGregor I eds), 1988: 769-779.
38. Dharmeshkumar N Patel, P Pradeep, MM Surti, SB Agarwal. Clinical Manifestations of Complicated Malaria- An Overview. *JACM* 2003; 4(4): 323-31.
39. Mohan A, Sharma SK, Bollineni S. Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome in malaria. *J Vector Borne Dis* 2008;45(3):179-93.
40. Dondorp AM. Pathophysiology, clinical presentation and treatment of cerebral malaria. *Neurology Asia* 2005;10:67-77 .

41. McGee S, Hirschmann J. Use of corticosteroids in treating infectious diseases. *Arch Intern Med* 2008;168(10):1034-46.
42. White NJ. Malaria. In: Manson's Tropical Diseases. Edited by Cook GC, Zumia AI, Weir J. Philadelphia, PA:WB Saunders; 2003:1205-295
43. Mishra SK, Das BS. Malaria and acute kidney injury. *Semin Nephrol* 2008;28(4):395-408.
44. Ehrich JH, Eke FU. Malaria-induced renal damage: facts and myths. *Pediatr Nephrol* 2007;22(5):626-37.
45. Das BS. Renal failure in malaria. *J Vector Borne Dis* 2008;45(2):83-97.
46. Maitland K, Newton CR. Acidosis of severe falciparum malaria: heading for a shock? *Trends Parasitol* 2005;21(1):11-6.
47. Planche T, Dzeing A, Ngou-Milama E, Kombila M, Stacpoole PW. Metabolic complications of severe malaria. *Curr Top Microbiol Immunol* 2005;295:105-36.
48. Riddle MS, Jackson JL, Sanders JW, Blazes DL. Exchange transfusion as an adjunct therapy in severe Plasmodium falciparum malaria: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2002;34(9):1192-8.
49. World Health Organization, Communicable Diseases Cluster. Severe falciparum malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000;94:S1-90.
50. Dondorp AM, Fanello CI, Hendriksen IC, Gomes E, Seni A. Artesunate versus quinine in the treatment of severe falciparum malaria in African children (AQUAMAT): an open-label, randomised trial. *Lancet* 2010;376(9753):1647-57.
51. Guidelines for the treatment of malaria. Third Edition. World Health Organization, Geneva 2011.
52. Bonington A, Davidson RN, Winstanley PA et al. Fatal quinine cardiotoxicity in the treatment of falciparum malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996;90:305-7.
53. Centers for disease control and prevention. Treatment of Malaria: Guidelines For Clinicians (United States) (www.cdc.gov/malaria/pdf/treatmenttable.pdf)
54. Maitland K, Nadel S, Pollard AJ, Williams TN, Newton CR, Levin M. Management of severe malaria in children: proposed guidelines for the United Kingdom. *BMJ* 2005;331(7512):337-43.
55. Lewis SJ, Davidson RN, Ross EJ, Hall AP. Severity of imported falciparum malaria: effect of taking antimalarial prophylaxis. *BMJ* 1992;305(6856):741-3.

56. Franco-Paredes C, Santos-Preciado JI. Problem pathogens: prevention of malaria in travellers. *Lancet Infect Dis* 2006;6(3):139-49.
57. Chen LH, Wilson ME, Schlagenhauf P. Controversies and misconceptions in malaria chemoprophylaxis for travelers. *JAMA* 2007;297(20):2251-63.
58. Lalloo DG, Hill DR. Preventing malaria in travellers. *BMJ* 2008;336(7657):1362-6.
59. Lobel HO, Kozarsky PE. Update on prevention of malaria for travelers. *JAMA* 1997;278(21):1767-71.
60. Sharma S, Pathak S. Malaria vaccine: a current perspective. *J Vector Borne Dis* 2008;45(1):1-20.
61. Collins WE, Barnwell JW. A hopeful beginning for malaria vaccines. *N Engl J Med* 2008;359(24):2599-601.
62. Herrero MD, Rivas P, Rallón NI, Ramírez-Olivencia G, Puente S. HIV and malaria. *AIDS Rev* 2007;9(2):88-98.
63. Skinner-Adams TS, McCarthy JS, Gardiner DL, Andrews KT. HIV and malaria co-infection: interactions and consequences of chemotherapy. *Trends Parasitol* 2008;24(6):264-71.
64. Flateau C, Le Loup G, Pialoux G. Consequences of HIV infection on malaria and therapeutic implications: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2011;11(7):541-56.
65. Van geertruyden JP, D'Alessandro U. Malaria and HIV: a silent alliance. *Trends Parasitol* 2007;23(10):465-7.
66. Abu-Raddad LJ, Patnaik P, Kublin JG. Dual infection with HIV and malaria fuels the spread of both diseases in sub-Saharan Africa. *Science* 2006;314(5805):1603-6.
67. Laufer MK, Plowe CV. The Interaction between HIV and malaria in Africa. *Curr Infect Dis Rep* 2007;9(1):47-54.
68. Kain KC, Harrington MA, Tennyson S, Keystone JS. Imported malaria: prospective analysis of problems in diagnosis and management. *Clin Infect Dis* 1998;27:142-9.
69. Jensenius M, Rønning EJ, Blystad H, Bjørneklett A, Hellum KB, Bucher A, Håheim LL, Myrvang B. Low frequency of complications in imported falciparum malaria: a review of 222 cases in south-eastern Norway. *Scand J Infect Dis* 1999;31(1):73-8.
70. Rabe C, Paar WD, Knopp A, Münch J, Musch A, Rockstroh J, Martin S, Sauerbruch T, Dumoulin FL. Malaria in the emergency room. Results of the emergency treatment of 137 patients with symptomatic malaria. *Dtsch Med Wochenschr* 2005;130(4):145-9.

71. Krause G, Schöneberg I, Altmann D, Stark K. Chemoprophylaxis and malaria death rates. *Emerg Infect Dis* 2006;12(3):447-51.
72. Miura T, Kimura M, Koibuchi T, Endo T et al. Clinical characteristics of imported malaria in Japan: analysis at a referral hospital. *Am J Trop Med Hyg* 2005;73:599-603.
73. Spinazzola F, Nicastrì E, Vlassi C, Ghirga P et al. Imported malaria at Italy's National Institute for Infectious Diseases Lazzaro Spallanzani, 1984-2003. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007;26:175-9.
74. Neghina R, Neghina AM, Giurgiu LD, Marincu I et al. Import of malaria in a Romanian Western County. *Travel Med Infect Dis* 2008;6:215-8.
75. Kockaerts Y, Vanhees S, Knockaert DC, Verhaegen J, Lontie M, Peetermans WE. Imported malaria in the 1990s: a review of 101 patients. *Eur J Emerg Med* 2001;8(4):287-90.
76. Millet JP, Garcia de Olalla P, Carrillo-Santistevè P, Gascón J et al. Imported malaria in a cosmopolitan European city: a mirror image of the world epidemiological situation. *Malar J* 2008;7:56.
77. Matteelli A, Colombini P, Gulletta M, Castelli F et al. Epidemiological features and case management practices of imported malaria in northern Italy 1991-1995. *Trop Med Int Health* 1999;4:653-7.
78. Corne P, Klouche K, Basset D, Amigues L et al. Severe imported malaria in adults: a retrospective study of 32 cases admitted to intensive care units. *Pathol Biol* 2004;52:622-6.
79. Christen D, Steffen R, Schlagenhauf P. Deaths caused by malaria in Switzerland 1988-2002. *Am J Trop Med Hyg* 2006;75:1188-94.
80. Newman RD, Parise ME, Barber AM, Steketee RW. Malaria-related deaths among U.S. travelers, 1963-2001. *Ann Intern Med* 2004;141:547-55.
81. Charles DM, Hart J, Davis WA, Sullivan E, Dowse GK, Davis TM. Notifications of imported malaria in Western Australia, 1990-2001: incidence, associated factors and chemoprophylaxis. *Med J Aust* 2005;182(4):164-7.
82. Schwake L, Streit JP, Edler L, Encke J et al. Early treatment of imported falciparum malaria in the intermediate and intensive care unit setting: an 8-year single-center retrospective study. *Crit Care* 2008;12:R22.

83. Oh HM, Kong PM, Snodgrass I. Imported malaria in a Singapore hospital: clinical presentation and outcome. *Int J Infect Dis* 1999;3:136-9.
84. Robinson P, Jenney AW, Tachado M, Yung A, Manitta J, Taylor K, Biggs BA. Imported malaria treated in Melbourne, Australia: epidemiology and clinical features in 246 patients. *J Travel Med* 2001;8(2):76-81.
85. Schwartz E, Parise M, Kozarsky P, Cetron M. Delayed onset of malaria--implications for chemoprophylaxis in travelers.. *N Engl J Med* 2003;349(16):1510.
86. Sicard S, Simon F, Soula G, Gazin P. Efficacy of antimalarial chemoprophylaxis for travelers. *J Travel Med* 2009;16(1):66-7.
87. Askling HH, Nilsson J, Tegnell A, Janzon R, Ekdahl K. Malaria risk in travelers. *Emerg Infect Dis* 2005;11(3):436-41.
88. Schöneberg I, Stark K, Altmann D, Krause G. Imported malaria in Germany – countries of infection and parasite species, 1993-2007. *Gesundheitswesen* 2008;70(4):256-61.
89. Jelinek T, Schulte C, Behrens R, Grobusch MP et al. Imported *Falciparum* malaria in Europe: sentinel surveillance data from the European network on surveillance of imported infectious diseases. *Clin Infect Dis* 2002;34:572-6.
90. Nitya Nand, Harikrishan Aggarwal, Manju Sharma, Manmeet Singh. Systemic Manifestations of Malaria. *Journal Indian Academy of Clinical Medicine* 2001;2:189-194
91. Idro R, Ndiritu M, Ogutu B, Mithwani S et al. Burden, features, and outcome of neurological involvement in acute *falciparum* malaria in Kenyan children. *JAMA* 2007;297:2232-40.
92. Mung'Ala-Odera V, Snow RW, Newton CR. The burden of the neurocognitive impairment associated with *Plasmodium falciparum* malaria in sub-saharan Africa. *Am J Trop Med Hyg* 2004;71(2 Suppl):64-70.
93. Mishra SK, Newton CR. Diagnosis and management of the neurological complications of *falciparum* malaria. *Nat Rev Neurol* 2009;5:189-98.
94. Patankar TF, Karnad DR, Shetty PG, Desai AP, Prasad SR. Adult cerebral malaria: prognostic importance of imaging findings and correlation with postmortem findings. *Radiology* 2002;224(3):811-6.

95. Erhart LM, Yingyuen K, Chuanak N, Buathong N et al. Hematologic and clinical indices of malaria in a semi-immune population of western Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 2004;70:8-14.
96. Fernandes AA, Carvalho LJ, Zanini GM, Ventura AM et al. Similar cytokine responses and degrees of anemia in patients with *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* infections in the Brazilian Amazon region. *Clin Vaccine Immunol* 2008;15:650-8.
97. Lyke KE, Burges R, Cissoko Y, Sangare L, Dao M, Diarra I, Kone A, Harley R, Plowe CV, Doumbo OK, Sztein MB. Serum levels of the proinflammatory cytokines interleukin-1 beta (IL-1beta), IL-6, IL-8, IL-10, tumor necrosis factor alpha, and IL-12(p70) in Malian children with severe *Plasmodium falciparum* malaria and matched uncomplicated malaria or healthy controls. *Infect Immun* 2004;72(10):5630-7.
98. Sarangi A, Monapathra PC, Dalai RK. Serum cytokine levels of IL-12, IL-4 and TNF-alpha in malaria: a study from the coastal districts of Odisha. *Journal of Cell and Tissue Research* 2011, 11(2): 2873-78.
99. Chen Q, Schlichtherle M, Wahlgren M. Molecular aspects of severe malaria. *Clin Microbiol Rev* 2000;13(3):439-50.
100. Scuderi P, Sterling KE, Lam KS, Finley PR, Ryan KJ, Ray CG, Petersen E, Slymen DJ, Salmon SE. Raised serum levels of tumour necrosis factor in parasitic infections. *Lancet* 1986;2(8520):1364-5.
101. Kwiatkowski D, Cannon JG, Manogue KR, Cerami A, Dinarello CA, Greenwood BM. Tumour necrosis factor production in *Falciparum* malaria and its association with schizont rupture. *Clin Exp Immunol* 1989;77(3):361-6.
102. Malaguarnera L, Musumeci S. The immune response to *Plasmodium falciparum* malaria. *Lancet Infect Dis* 2002;2(8):472-8.
103. Schofield L, Grau GE. Immunological processes in malaria pathogenesis. *Nat Rev Immunol* 2005;5(9):722-35.
104. Struik SS, Riley EM. Does malaria suffer from lack of memory? *Immunol Rev* 2004;201:268-90.
105. Kern P, Hemmer CJ, Van Damme J, Gruss HJ, Dietrich M. Elevated tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 serum levels as markers for complicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Med* 1989;87(2):139-43.

106. McGuire W, D'Alessandro U, Stephens S, Olaleye BO, Langerock P, Greenwood BM, Kwiatkowski D. Levels of tumour necrosis factor and soluble TNF receptors during malaria fever episodes in the community. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1998;92(1):50-3.
107. Shaffer N, Grau GE, Hedberg K, Davachi F, Lyamba B, Hightower AW, Breman JG, Phuc ND. Tumor necrosis factor and severe malaria. *J Infect Dis* 1991;163(1):96-101.
108. Mordmüller BG, Metzger WG, Juillard P, Brinkman BM, Verweij CL, Grau GE, Kremsner PG. Tumor necrosis factor in *Plasmodium falciparum* malaria: high plasma level is associated with fever, but high production capacity is associated with rapid fever clearance. *Eur Cytokine Netw* 1997;8(1):29-35.
109. Zeyrek FY, Kurcer MA, Zeyrek D, Simsek Z. Parasite density and serum cytokine levels in *Plasmodium vivax* malaria in Turkey. *Parasite Immunol* 2006;28(5):201-7.
110. Kern P, Hemmer CJ, Van Damme J, Gruss HJ, Dietrich M. Elevated tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 serum levels as markers for complicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Med* 1989;87(2):139-43.
111. Gandapur AS, Malik SA. Tumor necrosis factor in *falciparum* malaria. *Ann Saudi Med* 1996;16(6):609-14.
112. Bruunsgaard H, Pedersen M, Pedersen BK. Aging and proinflammatory cytokines. *Curr Opin Hematol* 2001;8(3):131-6.
113. Krabbe KS, Pedersen M, Bruunsgaard H. Inflammatory mediators in the elderly. *Exp Gerontol* 2004;39(5):687-99.
114. Brüünsgaard H, Pedersen BK. Age-related inflammatory cytokines and disease. *Immunol Allergy Clin North Am* 2003;23(1):15-39.
115. Francischetti IM. Does activation of the blood coagulation cascade have a role in malaria pathogenesis? *Trends Parasitol* 2008;24(6):258-63.
116. Francischetti IM, Seydel KB, Monteiro RQ. Blood coagulation, inflammation, and malaria. *Microcirculation* 2008;15(2):81-107.
117. Ghosh K, Shetty S. Blood coagulation in *falciparum* malaria--a review. *Parasitol Res* 2008;102(4):571-6

118. Mohanty D, Ghosh K, Nandwani SK, Shetty S, Phillips C, Rizvi S, Parmar BD. Fibrinolysis, inhibitors of blood coagulation, and monocyte derived coagulant activity in acute malaria. *Am J Hematol* 1997;54(1):23-9.
119. Hemmer CJ, Kern P, Holst FG, Radtke KP, Egbring R, Bierhaus A, Nawroth PP, Dietrich M. Activation of the host response in human *Plasmodium falciparum* malaria: relation of parasitemia to tumor necrosis factor/cachectin, thrombin-antithrombin III, and protein C levels. *Am J Med* 1991;91(1):37-44.
120. Krishna S, Waller DW, ter Kuile F, Kwiatkowski D, Crawley J, Craddock CF, Nosten F, Chapman D, Brewster D, Holloway PA et al. Lactic acidosis and hypoglycaemia in children with severe malaria: pathophysiological and prognostic significance. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994;88(1):67-73.
121. Sarthou JL, Angel G, Aribot G, Rogier C, Dieye A, Toure-Balde A, Diatta B, Seignot P, Roussillon C. Prognostic value of anti-*Plasmodium falciparum*-specific immunoglobulin G3, cytokines and their soluble receptors in West African patients with severe malaria. *Infect Immun* 1997;65: 3271-3276.
122. Hollenstein U, Looareesuwan S, Aichelburg A, Thalhammer F, Stoiser B, Amradee S, Chullawichit S, El Menyawi I, Burgmann H. Serum procalcitonin levels in severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Trop Med Hyg* 1998;59(6):860-3.
123. Manegold C, Schmiedel S, Chiwakata CB, Dietrich M. Procalcitonin serum levels in tertian malaria. *Malar J* 2003;2:34.
124. Chiwakata CB, Manegold C, Bönicke L, Waase I, Jülch C. Procalcitonin as a parameter of disease severity and risk of mortality in patients with *Plasmodium falciparum* malaria. *J Infect Dis* 2001;183:1161-4.
125. Gravenor MB, van Hensbroek MB, Kwiatkowski D. Estimating sequestered parasite population dynamics in cerebral malaria. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(13):7620-4.
126. Seringe E, Thellier M, Fontanet A, Legros F, Bouchaud O, Ancelle T, Kendjo E, Houze S, Le Bras J, Danis M, Durand R; French National Reference Center for Imported Malaria Study Group. Severe imported *Plasmodium falciparum* malaria, France, 1996-2003. *Emerg Infect Dis* 2011;17(5):807-13.
127. Dondorp AM, Lee SJ, Faiz MA, Mishra S, Price R, Tjitra E, Than M, Htut Y, Mohanty S, Yunus EB, Rahman R, Nosten F, Anstey NM, Day NP, White NJ. The

relationship between age and the manifestations of and mortality associated with severe malaria. *Clin Infect Dis* 2008;47(2):151-7.

128. Phillips A, Bassett P, Zeki S, Newman S, Pasvol G. Risk factors for severe disease in adults with falciparum malaria. *Clin Infect Dis* 2009;48(7):871-8.

129. Mueller I, Galinski MR, Baird JK, Carlton JM, Kochar DK, Alonso PL, del Portillo HA. Key gaps in the knowledge of *Plasmodium vivax*, a neglected human malaria parasite. *Lancet Infect Dis* 2009;9(9):555-66.

130. Baird JK. Neglect of *Plasmodium vivax* malaria. *Trends Parasitol* 2007;23(11):533-9.

131. Kochar DK, Saxena V, Singh N, Kochar SK, Kumar SV, Das A. *Plasmodium vivax* malaria. *Emerg Infect Dis* 2005;11(1):132-4.

132. Sharma A, Khanduri U. How benign is benign tertian malaria? *J Vector Borne Dis* 2009;46(2):141-4.

133. Singh H, Parakh A, Basu S, Rath B. *Plasmodium vivax* malaria: is it actually benign? *J Infect Public Health* 2011;4(2):91-5.

134. Tjitra E, Anstey NM, Sugiarto P, Warikar N, Kenangalem E, Karyana M, Lampah DA, Price RN. Multidrug-resistant *Plasmodium vivax* associated with severe and fatal malaria: a prospective study in Papua, Indonesia. *PLoS Med* 2008;5(6):e128.

135. Mühlberger N, Jelinek T, Behrens RH, Gjørup I, Coulaud JP, Clerinx J, Puente S, Burchard G, Gascon J, Grobusch MP, Weitzel T, Zoller T, Kollaritsch H, Beran J, Iversen J, Hatz C, Schmid ML, Björkman A, Fleischer K, Bisoffi Z, Guggemos W, Knobloch J, Matteelli A, Schulze MH, Laferl H, Kapaun A, McWhinney P, Lopez-Velez R, Fätkenheuer G, Kern P, Zieger BW, Kotlowski A, Fry G, Cuadros J, Myrvang B; TropNetEurop; Surveillance importierter Infektionen in Deutschland Surveillance Networks. Age as a risk factor for severe manifestations and fatal outcome of falciparum malaria in European patients: observations from TropNetEurop and SIMPID Surveillance Data. *Clin Infect Dis* 2003;36(8):990-5.

136. Schwartz E, Sadetzki S, Murad H, Raveh D. Age as a risk factor for severe *Plasmodium falciparum* malaria in nonimmune patients. *Clin Infect Dis* 2001;33(10):1774-7.

137. Gjørup IE, Rønn A. Malaria in elderly nonimmune travelers. *J Travel Med* 2002;9(2):91-3.

138. Koh KH, Chew PH, Kiyu A. A retrospective study of malaria infections in an intensive care unit of a general hospital in Malaysia. *Singapore Med J* 2004;45(1):28-36.
139. Legros F, Bouchaud O, Ancelle T, Arnaud A, Cojean S, Le Bras J, Danis M, Fontanet A, Durand R; for the French National Reference Centers for Imported and Autochthonous Malaria Epidemiology and Chemosensitivity Network. Risk factors for imported fatal *Plasmodium falciparum* malaria, France, 1996-2003. *Emerg Infect Dis* 2007;13(6):883-8.
140. Bruneel F, Hocqueloux L, Alberti C, Wolff M, Chevret S, Bédos JP, Durand R, Le Bras J, Régnier B, Vachon F. The clinical spectrum of severe imported *falciparum* malaria in the intensive care unit: report of 188 cases in adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167(5):684-9.
141. Oliveira-Ferreira J, Lacerda MV, Brasil P, Ladislau JL, Tauil PL, Daniel-Ribeiro CT. Malaria in Brazil: an overview. *Malar J* 2010;9:115.
142. Akanmori BD, Kurtzhals JA, Goka BQ, Adabayeri V, Ofori MF, Nkrumah FK, Behr C, Hviid L. Distinct patterns of cytokine regulation in discrete clinical forms of *Plasmodium falciparum* malaria. *Eur Cytokine Netw* 2000;11(1):113-8.
143. Idro R, Jenkins NE, Newton CR. Pathogenesis, clinical features, and neurological outcome of cerebral malaria. *Lancet Neurol* 2005;4(12):827-40.
144. Olopoenia LA, King AL. Widal agglutination test – 100 years later: still plagued by controversy. *Postgrad Med J* 2000;76(892):80-4.
145. Jhaveri KN, Nandwani SK, Mehta PK, Surati RR, Parmar BD. False positive modified Widal test in acute malaria. *J Assoc Physicians India* 1995;43(11):754-5.
146. Uneke CJ. Concurrent malaria and typhoid fever in the tropics: the diagnostic challenges and public health implications. *J Vector Borne Dis* 2008;45(2):133-42.
147. Nacher M. Interactions between worms and malaria: good worms or bad worms? *Malar J* 2011;10:259.
148. Olliaro PL, Taylor WR. Antimalarial compounds: from bench to bedside. *J Exp Biol* 2003;206(Pt 21):3753-9.
149. Majori G. Combined antimalarial therapy using artemisin. *Parassitologia* 2004;46(1-2):85-7.

150. Rosenthal PJ. Antimalarial drug discovery: old and new approaches. *J Exp Biol* 2003;206:3735-44.
151. Ashley EA, White NJ. Artemisinin-based combinations. *Curr Opin Infect Dis* 2005;18(6):531-6.
152. Rathore D, McCutchan TF, Sullivan M, Kumar S. Antimalarial drugs: current status and new developments. *Expert Opin Investig Drugs* 2005;14(7):871-83.
153. Nosten F, van Vugt M, Price R, Luxemburger C, Thway KL, Brockman A, McGready R, ter Kuile F, Looareesuwan S, White NJ. Effects of artesunate-mefloquine combination on incidence of *Plasmodium falciparum* malaria and mefloquine resistance in western Thailand: a prospective study. *Lancet* 2000;356(9226):297-302.
154. AlKadi HO. Antimalarial drug toxicity: a review. *Chemotherapy* 2007;53(6):385-91.
155. Silachamroon U, Krudsood S, Thanachartwet W, Tangpukdee N, Leowattana W, Chalermrut K, Srivilairit S, Wilaiaratana P, Thimasarn K, Looareesuwan S. An open, randomized trial of three-day treatment with artesunate combined with a standard dose of mefloquine divided over either two or three days, for acute, uncomplicated *falciparum* malaria. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005;36(3):591-6.
156. Agomo PU, Meremikwu MM, Watila IM, Omalu IJ, Odey FA, Oguche S, Ezeiru VI, Aina OO. Efficacy, safety and tolerability of artesunate-mefloquine in the treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in four geographic zones of Nigeria. *Malar J* 2008;7:172.
157. Day N, Dondorp AM. The management of patients with severe malaria. *Am J Trop Med Hyg* 2007;77(6 Suppl):29-35.
158. Taylor WR, White NJ. Antimalarial drug toxicity: a review. *Drug Saf* 2004;27(1):25-61.
159. Lalloo DG, Shingadia D, Pasvol G, Chiodini PL, Whitty CJ, Beeching NJ, Hill DR, Warrell DA, Bannister BA; HPA Advisory Committee on Malaria Prevention in UK Travellers. UK malaria treatment guidelines. *J Infect* 2007;54(2):111-21.
160. Baird JK, Hoffman SL. Primaquine therapy for malaria. *Clin Infect Dis* 2004;39(9):1336-45.

161. Ouédraogo LT, Somé IT, Diarra M, Guissou IP. Self-medication in the treatment of acute malaria: study based on users of private health drug stores in Ouagadougou, Burkina Faso. *Bull Soc Pathol Exot* 2008;101:124-7.
162. Erhart LM, Yingyuen K, Chuanak N, Buathong N, Laoboonchai A, Miller RS, Meshnick SR, Gasser RA Jr, Wongsrichanalai C. Hematologic and clinical indices of malaria in a semi-immune population of western Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 2004;70(1):8-14.

VIII PRILOG

SPISAK SKRAĆENICA

- SZO – Svetska zdravstvena organizacija
- CDC – Centers for Disease Control
- TNF- α – tumor necrosis factor-alpha
- IL-6 – interleukin-6
- PCR – polymerase chain reaction
- DIK – diseminovana intravaskularna koagulacija
- ARDS – akutni respiratorni distres sindrom
- FDP – fibrin degradation product
- EBV – Epstein-Barr virus
- GCS – Glasgow Coma Scale
- AST – aspartat aminotransferaza
- ALT – alanin aminotransferaza
- LDH – laktat dehidrogenaza
- EBV – Epstein-Barr virus
- HIV – humani virus imunodeficijencije
- HCV – hepatitis C virus
- HBV – hepatitis B virus
- BAB – test dokazivanja antitela na Brucella-e
- SAD – Sjedinjene Američke Države
- CNS – centralni nervni sistem
- CT – computed tomography
- CMG – crnomokraćna groznica
- EU – Evropska Unija

BIOGRAFIJA

Dr Jasmina Poluga je rođena 11.04.1963. godine. Diplomirala je na Medicinskom fakultetu u Beogradu, 03.06.1991. god., sa prosečnom ocenom 8,28.

U Klinici za infektivne i tropske bolesti u Beogradu radi od 1995. god., a 30.06.1998. je položila specijalistički ispit iz Infektivnih bolesti.

Tokom 1997. god. je učestvovala u naučnom istraživanju Instituta za socijalnu medicinu, statistiku i istraživanja u zdravstvu Medicinskog fakulteta u Beogradu („Evaluacija AIDS preventivnih programa“). Deo pomenutog projekta je magistarska teza pod nazivom „Incidencija bolesti koje se prenose seksualnim putem kao indikator uspešnosti prevencije AIDS-a“, koju je odbranila 19.06.2000. god.

Tokom proteklih godina održala je brojna predavanja u okviru kliničkih seminara i Infektološke sekcije, i prezentovala radove na domaćim i međunarodnim kongresima.

Završila je teorijsku nastavu iz primene ultrazvuka u dijagnostici, u okviru Edukacionog centra ultrazvuka u Kragujevcu 2003. god.

Juna 2012. god. učestvovala je na seminaru iz Infektivnih bolesti u Salzburgu.

U zvanje asistenta za predmet Infektivne bolesti izabrana je 29.12.2005. godine, a reizabrana 26.05.2010.

Posедуje aktivno znanje engleskog jezika.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а DR JASMINA POLJGA

број уписа _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

ODNOS KONCENTRACIJE PROINFLAMATORNIH CITOKINA U SERUMU I
KLINIČKIH, PARAZITOLŠKIH I H EMATOLOŠKIH PROMENA U TOKU IMPORTOVAN
MALARIJE

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 17.10.2012.

Jasmina Poljga

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора DR JASMINA POLJUGA

Број уписа _____

Студијски програм _____

Наслов рада _____

Ментор PROF. DR MILORAD PAVLOVIĆ

Потписани DR JASMINA POLJUGA


изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 17.10.2012.



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

ODNOS KONCENTRACIJE PROINFLAMATORNIH CITOKINA U SERUMU I
KLINICKIH, PARAZITOLOSKIH I HEMATOLOSKIH PROMENA U TOKU IMPORTOVANE
MALARIJE

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

~~3. Ауторство~~ Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 17.10.2012.

