

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Sektion Tropenmedizin der I. Medizinischen Klinik

Prof. Dr. Gerd-Dieter Burchard

Klinische Bedeutung verschiedener Biomarker bei importierter Malaria

Dissertation

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

vorgelegt von:

Sabine Stauga
aus Hollen, jetzt Hollnseth

Hamburg 2013

Für Hauke.

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 22.08.2013**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. G. Burchard

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. B. Fleischer

Prüfungsausschuss, dritte/r Gutachter/in: Prof. Dr. C. Schramm

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
1 Einleitung	1
1.1 Hintergrund	1
1.1.1 Epidemiologie	1
1.1.2 Erreger und Zyklus	2
1.1.3 Pathogenetische Grundlagen.....	3
1.1.4 Natürliche und erworbene Immunität	6
1.1.5 Klinik.....	7
1.2 Biomarker.....	10
1.2.1 Untersuchte Biomarker	10
1.2.1.1 Marker einer Inflammation.....	11
1.2.1.2 Marker einer Endothelaktivierung.....	11
1.2.1.3 Marker einer kardialen Dysfunktion	11
1.2.1.4 Marker einer Koagulopathie	11
1.2.1.5 Hämolysemarker	11
1.3 Fragestellung und Ziele der Studie.....	11
2 Material und Methoden	13
2.1 Studienort.....	13
2.2 Krankengut.....	13
2.3 Kontrollgruppe.....	13
2.4 Grundlagen der Auswertung	14
2.5 Malariadiagnostik	14
2.6 Weitere Laboruntersuchungen	15
2.7 Körperliche Untersuchung.....	16
2.8 Statistische Auswertung	16
2.9 Ethik und Datensicherheit	16
3 Ergebnisse	17
3.1 Demografische Daten	17
3.2 Reiseanamnestische Daten	18
3.3 Kontrollgruppe.....	19
3.4 Klinische Befunde	19
3.5 Laborergebnisse	20

3.5.1	Allgemeine Laborergebnisse.....	20
3.5.2	Biomarker	22
4	Diskussion	24
4.1	Untersuchte Biomarker.....	24
4.1.1	Marker einer Inflammation	24
4.1.2	Marker einer Endothelaktivierung	27
4.1.3	Marker einer kardialen Dysfunktion.....	30
4.1.4	Marker einer Koagulopathie	31
4.1.5	Hämolysemarker.....	32
4.2	Diagnosekriterien für die komplizierte Malaria tropica	33
4.3	Reiseanamnese	33
4.4	Limitationen.....	34
5	Zusammenfassung	35
6	Literaturverzeichnis	36
7	Tabellenverzeichnis	46
8	Abbildungsverzeichnis	47
9	Abkürzungsverzeichnis	48
10	Anhang	50
	Danksagung	57
	Curriculum Vitae	58
	Eidesstattliche Versicherung	59

1 Einleitung

1.1 Hintergrund

1.1.1 Epidemiologie

Mehr als drei Milliarden Menschen leben in Malariaendemiegebieten, dies ist fast die Hälfte der Weltbevölkerung (WHO, 2011b). Die Malaria ist immer noch eine der häufigsten Erkrankungen weltweit, die durch Parasiten verursacht wird. Insgesamt war die Malariainzidenz im Jahr 2010 mit 216 Millionen an die Weltgesundheitsorganisation (WHO) gemeldeten Erkrankungsfällen im Vergleich zu den Vorjahren leicht rückläufig, dennoch ist insbesondere die Malaria tropica eine Erkrankung mit einer hohen Mortalität. Zwar konnte von 2000 bis 2010 eine Reduktion der Mortalität um mehr als 25% verzeichnet werden, aber im Jahr 2010 starben weltweit immer noch mehr als 650.000 Menschen an dieser Erkrankung. 86% der tödlichen Verläufe betrafen zudem Kinder unter fünf Jahren. Am stärksten ist das subsaharische Afrika betroffen, aus dem fast 90% aller Malariafälle gemeldet werden. Der Malaria tropica kommt hier die größte Bedeutung zu. Sie ist die häufigste Malariaform und die häufigste Ursache für Todesfälle bei einer Malariaerkrankung (WHO, 2011b).

Nicht nur für die Bewohner von Endemiegebieten spielt die Malaria eine wichtige Rolle. Durch Globalisierung und Migration ist sie auch für Reisende eine bedeutende und ernstzunehmende Erkrankung geworden (Jenseni et al., 2013). Mehr als 125 Millionen Reisende besuchen jährlich Malariaendemiegebiete und mehrere Tausend Reisende erkranken pro Jahr an einer Malaria (WHO, 2011a). Erfreulicherweise hat die Inzidenz der importierten Malaria in den letzten Jahren abgenommen (Odolini et al., 2011). Während vor circa zehn Jahren jährlich noch bis zu 12.000 nach Europa importierte Fälle gemeldet wurden (World Health Organization (2006) Regional office for Europe, 2006), wurden dem European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) im Jahr 2009 nur noch 6050 Fälle gemeldet. Somit liegt die Inzidenz bei 0,89/100.000 Einwohner (ECDC, 2011).

Für das Jahr 2011 gibt das Robert-Koch-Institut (RKI) insgesamt 562 nach Deutschland importierte Malariafälle an. Darunter waren 407 Malaria tropica-Fälle, von denen der Hauptteil in Afrika erworben wurde. Nach den Bundesländern Nordrhein-Westfalen, Bayern und Baden-Württemberg lag Hamburg mit einer Malariainzidenz von 2,7 pro 100.000 Einwohner im selben Jahr an vierter Stelle (RKI, 2012). Dass die Malariainzi-

denz in Hamburg im Vergleich zu anderen Bundesländern relativ hoch ist, liegt sicherlich auch an der Bevölkerungsstruktur Hamburgs. Ein Großteil der in Hamburg behandelten Malariapatienten hat einen Migrationshintergrund und stammt ursprünglich aus Malariaendemiegebieten. Eine Malaria wird bei dieser Patientengruppe meist im Rahmen von Besuchen bei Freunden oder der Familie in ihrem Geburtsland erworben. Außerdem leben in einer internationalen Stadt wie Hamburg viele reisefreudige Menschen, die ihren Urlaub auch in Malariaendemiegebieten verbringen (RKI, 2010).

Insgesamt liegt die Letalität bei importierter Malaria in Industrienationen mit guter medizinischer Versorgung weit unter der Letalität der Endemiegebiete. Bei intensivpflichtiger, schwerer Malaria tropica aber ist sie dennoch besorgniserregend hoch. In Frankreich verstarben zwischen 2000 und 2006 noch 42 (10,5 %) von 400 intensivpflichtigen Malariapatienten (Bruneel et al., 2010). Im Jahr 2009 verstarben in Deutschland drei (0,6 %) Malariakranke (RKI, 2010).

1.1.2 Erreger und Zyklus

Fünf bekannte Plasmodienarten sind in der Lage, den Menschen zu infizieren: *Plasmodium (P). falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* und das ursprünglich nur bei südostasiatischen Makaken nachgewiesene *P. knowlesi* (White, 2008). Die Übertragung der Parasiten erfolgt über den Stich der weiblichen Anophelesmücke, während in der sexuellen Phase des Zyklus der Mücke die Vereinigung der weiblichen Makro- und der männlichen Mikrogametozyten stattfindet. Über weitere Zwischenstufen dieses Entwicklungszyklus entstehen die beweglichen und für den Menschen infektiösen Sporozoiten, die beim Saugakt der Mücke in die Blutbahn des Menschen gelangen. Die asexuelle Teilungsphase mit ihrer hepatischen (extraerythrozytären) und erythrozytären Schizogonie erfolgt dann im Menschen (Löscher et al., 2010).

Innerhalb von 15 bis 45 Minuten nach Inokulation dringen die Sporozoiten in die Leberzellen des befallenen Menschen ein, in denen über verschiedene Entwicklungsstufen die Bildung von sogenannten Gewebsschizonten erfolgt. Je nach Plasmodienart enthalten diese 2.000 bis 30.000 aus den Plasmodien entstandene Merozoiten. Nachfolgend kommt es zum Abschnüren merozoitenhaltiger Gewebsschizonten, welche nun als Merosomen in den Blutkreislauf ausgeschwemmt werden und dort ihre Merozoiten freisetzen. Im Vergleich zu den anderen drei Plasmodienarten, bei denen diese Entwicklung gleich nach Eindringen in die Leberzelle abläuft, können die Parasiten, wenn es sich um eine Infektion mit *P. ovale* oder *P. vivax* handelt, hingegen als einzellige Hypnozoiten eine Ruhephase in der Leber durchlaufen. Die hepatische Schizogonie

kann hier durch unbekannte Trigger auch noch Wochen oder Jahre später beginnen (Löscher et al., 2010).

Für alle Plasmodienarten beginnt die erythrozytäre Schizogonie nach dem aktiven Eindringen der Merozoiten in zirkulierende Erythrozyten zunächst mit der Bildung von amöboiden Trophozoiten. Dies sind die lichtmikroskopisch auffälligen Ringformen. Durch Reifung und Teilung entwickeln sich aus diesen die erythrozytären Schizonten, welche jeweils acht bis 32 Merozoiten enthalten können. Infizierte Erythrozyten rupturieren und setzen ihre Merozoiten frei, welche wiederum gesunde Erythrozyten befallen können. Die erythrozytäre Schizogonie kann so erneut beginnen und eine massive und schnelle Vermehrung der Parasiten kann die Folge sein (Löscher et al., 2010).

Ursache der klinischen Symptome des Infizierten, wie zum Beispiel Fieber, ist eine ausreichend hohe Parasitämie im Blut. Die Dauer der erythrozytären Schizogonie definiert die Zeitspanne der zyklischen Fieberschübe und unterscheidet sich bei den verschiedenen Plasmodienarten. Eine synchronisierte erythrozytäre Schizogonie läuft typischerweise bei *P. vivax* alle 48 Stunden, bei *P. ovale* alle 50 Stunden, bei *P. malariae* alle 72 Stunden und bei *P. knowlesi* alle 24 Stunden ab. Bei *P. falciparum* verläuft sie nicht synchron und es kommt trotz eines 48-stündigen Entwicklungszyklus zu nicht-periodisch auftretenden Fieberschüben.

Einige der in die Erythrozyten eingedrungenen Merozoiten teilen sich nicht, sondern entwickeln sich hier zu Mikro- oder Makrogametozyten, die bei einer Blutmahlzeit von der Anopheles-Mücke aufgenommen werden können (Löscher et al., 2010).

1.1.3 Pathogenetische Grundlagen

Allgemeine Grundlagen

Die genaue Pathogenese der Malariaerkrankung und ihrer so unterschiedlichen klinischen Ausprägungen ist zwar viel untersucht worden, aber noch nicht abschließend geklärt. Wie bei den meisten Infektionskrankheiten spielen bei der Ausprägung dieser Erkrankung einerseits Pathogenitätsfaktoren des Erregers eine Rolle, andererseits auch die Immunitätslage des Patienten. Alle Malariainfektionen rufen eine systemische Entzündungsreaktion hervor. Das klinische Korrelat sind Fieber und andere unspezifische Begleitsymptome. Immunologisch spielt bei der Malariainfektion das Monozyten-Makrophagensystem bei der zellvermittelten Immunität eine große Rolle. Zirkulierende und gewebsständige Phagozyten setzen durch den Angriff auf parasitierte Erythrozyten eine komplexe Kaskade von Abwehrmechanismen in Gang. Durch die Erythrozyten-

ruptur werden während der erythrozytären Phase Merozoiten und Zellreste von Schizonten in das Blut ausgeschwemmt. Diese Parasitenbestandteile, auch Malariatoxine genannt, setzen durch direkte Wirkung Entzündungsreaktionen in Gang. Gut untersuchte Malariatoxine sind zum Beispiel Glykosyl-Phosphatidyl-Inositolphosphat und Hämzoin (Casals-Pascual et al., 2006, Shio et al., 2010). Das Monozyten-Makrophagen-System wird unter anderem durch diese Malariatoxine aktiviert und kann seinerseits verschiedene anti- und proinflammatorische Zytokine und Entzündungsmediatoren freisetzen (Urquhart, 1994, Shio et al., 2010). Proinflammatorisch wirken zum Beispiel die Interleukine (IL) IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, Interferon gamma (IFN- γ) und der Tumornekrosefaktor (TNF) (Lyke et al., 2004, Kassa et al., 2011). IL-4 und IL-10 haben antiinflammatorische und antiparasitäre Eigenschaften (Peyron et al., 1994, Robinson et al., 2009).

Der Ablauf der Immunreaktion ist ein komplexer Vorgang, und die Immunantwort ist bei jedem Patienten potenziell unterschiedlich. Bei einer Erstinfektion mit Malariaparasiten ist die Phagozytenaktivität am größten. Sie wird mit jeder weiteren Infektion reduziert (Brown et al., 1990). Einige der Zytokine, wie zum Beispiel TNF und IL-10, haben sowohl anti- als auch proinflammatorische Qualitäten (Kremsner et al., 1995, Brandts et al., 1997). Ein stark erhöhter TNF-Spiegel korreliert zum Beispiel positiv mit einem schweren Krankheitsverlauf und einer erhöhten Letalität, ein niedrigerer TNF-Spiegel scheint einen gewissen Schutz vor einem fulminanten Verlauf zu bieten (Urquhart, 1994, Robinson et al., 2009).

Die Milz spielt beim Abbau parasitierter Erythrozyten bei Immunen sowie Nichtimmunen eine tragende Rolle. Klinisch zeigen in der Regel alle Malariapatienten eine Splenomegalie. Parasitierte Erythrozyten werden aufgrund ihrer geringen Verformbarkeit in der Milz frühzeitig durch Gewebsmakrophagen eliminiert. Außerdem sind die Makrophagen in der Lage, rigide Strukturen wie Plasmodien durch bestimmte Mechanismen aus Erythrozyten zu entfernen. Dieser Prozess wird *splenic pitting* genannt (Buffet et al., 2011).

Ebenfalls auffallend ist bei dem Großteil der Malariapatienten eine Anämie, die meist multifaktoriell bedingt ist. Eine schwere, lebensbedrohliche Anämie ist häufig bei betroffenen Kindern in Endemiegebieten zu beobachten (Löscher et al., 2010). Ursachen sind neben der Hämolyse durch Erythrozytenruptur der vermehrte Abbau durch die Milz und eine Hemmung der Erythropoese (Casals-Pascual et al., 2006, Roberts et al., 2005).

***P. falciparum* - spezifische pathogenetische Grundlagen**

Die Pathogenese der Malaria tropica hebt sich in einigen Punkten deutlich von der anderen Malariiformen ab. Eine Infektion mit *P. falciparum* verursacht die meisten Todesfälle bei Malariakranken. Durch verschiedene für diesen Erreger spezifische Mechanismen kann sich aus einer unkomplizierten Malaria tropica schnell eine komplizierte Malaria mit erhöhter Mortalität entwickeln. Im Gegensatz zu den anderen humanpathogenen Plasmodienarten, die nur junge Erythrozyten befallen können, zeigt sich bei der Malaria tropica häufig eine sehr hohe Parasitämie, die dadurch bedingt ist, dass *P. falciparum* Erythrozyten aller Reifungsstadien befallen kann (Löscher et al., 2010).

Mit *P. falciparum* infizierte Erythrozyten besitzen die besondere Fähigkeit der Sequestration, d.h. sie können sich in der Peripherie an Gefäßendothelzellen binden. In kleinen Gefäßen können Mikrozirkulationsstörungen und nachfolgend gegebenenfalls Infarzierungen stattfinden (Dondorp et al., 2005). Dieser Mechanismus ist wahrscheinlich auch eine Ursache der lebensbedrohlichen zerebralen Malaria, bei der zerebrale Punktblutungen beschrieben worden sind (Ponsford et al., 2012, Hanson et al., 2012). Wahrscheinlich beeinträchtigen zusätzlich lokal wirkende Entzündungsmediatoren die Durchblutung der Gefäße. Parasitierte Erythrozyten können sich durch Sequestration dem Blutkreislauf und dem Abbau in der Milz entziehen, ihre Lebenszeit dadurch verlängern und ihre Chance auf Vermehrung verbessern (Ho und White, 1999). Es ist also davon auszugehen, dass die peripher gemessene Parasitämie nicht die reale Parasitämie aufzeigt (Dondorp et al., 2005).

Der genaue Mechanismus der Sequestration ist noch nicht abschließend geklärt, jedoch scheinen von *P. falciparum* exprimierte Adhäsionsproteine, wie zum Beispiel das polymorphe *P.-falciparum-Erythrozyten-Membranprotein-1* (PfEMP-1), welches auf der Oberfläche großer parasitierter Erythrozyten erscheint, eine Rolle zu spielen. Auf der Erythrozytenoberfläche werden sogenannte *knobs*, also Vorwölbungen, gebildet, über die durch die Adhäsionsproteine die Bindung an das Endothel gefördert wird. PfEMP-1 gilt als ein wichtiger Ligand für die Endotheladhäsion befallener Erythrozyten. Das Besondere an diesem Protein ist, dass in jedem Parasitenisolat ungefähr 60 Gene für die Kodierung von PfEMP-1 zuständig sind, jedoch weisen diese eine hohe strukturelle Variabilität auf. Daher werden diese Gene auch *var-Gene* genannt. Pro Parasitenklon scheint in einer Parasitengeneration nur ein *var-Gen* exprimiert zu werden, andere Generationen exprimieren wiederum andere *var-Gene*. So wird durch ständige Veränderung von exprimiertem PfEMP-1 eine sequenzielle Antigen- und Adhäsionsvariation verursacht (Smith et al., 1995, Pasternak und Dzikowski, 2009, Löscher et al., 2010).

Dieser Parasit hat also einen Weg gefunden, sein Überleben im Körper zu verbessern und seine Eliminierung aus dem Körper des Menschen zu erschweren.

PfEMP-1 ist ein Ligand für diverse Endothelrezeptoren, deren Expressierung in den Gefäßen verschiedener Organe unterschiedlich hoch sein kann. Das ist ein Grund für die unterschiedliche Ausprägung und Schwere der Organbeteiligung bei der Malaria tropica (Pasternak und Dzikowski, 2009). Bisher sind 11 Rezeptoren bekannt. Zwei der wichtigsten sind die Membranproteine *Cluster of Differentiation 36* (CD 36) und *Inter-cellular adhesion molecule-1* (ICAM-1), an die fast alle *P.-falciparum*-Isolate binden können. Die Adhäsionsmoleküle ICAM-1 und das *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) sind Transmembran-Glykoproteine und werden auf einer Vielzahl verschiedener Zellen, unter anderem auch auf Endothelzellen, gebildet. Trigger für die vermehrte Bildung sind Zytokine, wie zum Beispiel TNF. Gemessen wird im Blut die lösliche Form dieser Rezeptoren, die entweder von den Endothelzellen abgestoßen werden oder durch mRNA-Spleißen entstehen (Pigott et al., 1992). Beide Rezeptoren sind bei der Malaria tropica hochreguliert. Die erhöhte Expressierung von ICAM-1 auf Endothelzellen des Gehirns spielt eine Rolle bei der komplizierten und zerebralen Malaria und ist mit einer erhöhten Mortalität assoziiert (Turner et al., 1994, Ochola et al., 2011). VCAM-1 hingegen bindet weitaus weniger Parasitenisolate. Bei Kindern aus Endemiegebieten, die an einer komplizierten Malaria tropica erkrankt sind, wird dieser Rezeptor sehr stark hochreguliert, bei Erwachsenen konnte dies nicht bestätigt werden (Tchinda et al., 2007). Viele weitere Adhäsionsrezeptoren, deren Rolle noch weiter erforscht werden muss, werden in der Literatur beschrieben (Conroy et al., 2010).

1.1.4 Natürliche und erworbene Immunität

Zusätzlich zu den Virulenzfaktoren der Plasmodien bestimmt die individuelle Immunitätslage des Patienten die Ausprägung und den Schweregrad der Klinik. Sie spielt bei der Malaria tropica mit ihrem hohen Potenzial zur Ausbildung von Komplikationen die größte Rolle.

In den ersten Lebensmonaten eines Kindes gibt es eine Art Nestschutz gegen eine komplizierte Malaria tropica. Neugeborene und Säuglinge sind teilweise durch ihr eigenes fetales Hämoglobin, aber auch durch diaplazentar übertragene, maternale IgG-Antikörper geschützt. Eine Malaria tropica nimmt hier oft einen milden Verlauf, die Parasitämie ist eher niedrig (Amaratunga et al., 2011). Im Laufe der ersten Lebensjahre bilden sich durch regelmäßige Neuinfektionen mit *P. falciparum* eigene protektive IgG-Antikörper gegen den Parasiten, welche die Grundlage der humoralen Immunität bilden.

Bewohner eines Hochendemiegebietes entwickeln so eine Teilimmunität, die potenziell die Ausbildung einer hohen Parasitämie im Blut verhindert und somit vor einer komplizierten Malaria schützen kann. Die zelluläre Immunität verbessert sich im Laufe der ersten Lebensjahre ebenfalls. Die schwersten Krankheitsverläufe und Todesfälle bei einer *Malaria tropica* treten bei Kindern unter fünf Jahren auf. Je älter das Kind wird, umso seltener sind schwere Infektionen, und die Letalität sinkt durch Ausbildung der Teilimmunität (Gill und Beeching, 2009). Die erworbene Teilimmunität kann sich nach Verlassen eines Endemiegebietes über einige Jahre wieder zurückbilden. Dies zu wissen ist wichtig bei Menschen mit Migrationshintergrund, die zum Beispiel in Deutschland leben und nach dem Besuch eines Endemiegebietes an einer Malaria erkranken. Komplizierte Verläufe können hier auftreten, Todesfälle sind aber selten (Löscher et al., 2010).

1.1.5 Klinik

Die *Malaria tropica* ist eine Multisystemerkrankung, bei der potenziell alle Organe in Mitleidenschaft gezogen werden können. Die Vielfalt der klinischen Ausprägung ist umfangreich. In der Regel zeigt sich die Klinik in der erythrozytären Phase des Vermehrungszyklus. In der Phase der hepatischen Schizogonie sind die Patienten asymptomatisch.

Leitsymptom der unkomplizierten *Malaria tropica* im Endemiegebiet ist, neben dem Nachweis von *P. falciparum* im Blut, eine Hyperpyrexie von oftmals $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$. Hinzu kommen meist Allgemeinsymptome, wie zum Beispiel Myalgien und Kopfschmerzen. Andere Ursachen für das Fieber und die Symptomatik sollten ausgeschlossen werden. Eine unkomplizierte *Malaria tropica* kann sich schnell zur komplizierten Form mit schwerem Verlauf und erhöhter Mortalität entwickeln (Checkley et al., 2012, Marks et al., 2013).

Komplizierte *Malaria tropica*

Die Diagnosestellung der komplizierten *Malaria tropica* erfolgt nach der Definition der Deutschen Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit e.V. (DTG) und der WHO, deren Kriterien in Tabelle 1 dargestellt sind.

Tab. 1: Kriterien der komplizierten Malaria tropica, modifiziert nach DTG (DTG, 2011) und WHO (WHO, 2000, WHO, 2010).

Klinische Kriterien	Laborkriterien
– Bewusstseinsbeeinträchtigung oder Koma	– Hypoglykämie (BZ \leq 40 mg/dl)
– Zerebrale Krampfanfälle	– Metabolische Azidose (Bicarbonat \leq 15mmol/l)
– Azidotische Atmung, respiratorische Insuffizienz, Dyspnoe	– Schwere Anämie (Hb \leq 80g/l)
– Hypotonie, Schocksymptomatik (RRsys \leq 70mmHg)	– Hämoglobinurie
– Ikterus	– Hyperparasitämie (\geq 5% befallene Erythrozyten)
– Spontanblutungen	– Niereninsuffizienz (Kreatinin \geq 265 μ mol/l)
– Lungenödem	

Aufgrund der für *P. falciparum* spezifischen Pathomechanismen können sich im Rahmen der Erkrankung eine systemische Inflammation, Endothelaktivierung, Koagulopathie und kardiale Dysfunktion entwickeln. In dieser Arbeit soll ein Fokus auf eben diese Mechanismen gelegt werden.

Endothelbeteiligung

Das Phänomen der Endothelschädigung im Rahmen einer Malaria tropica, insbesondere bei der komplizierten Form, ist in den letzten Jahren gut untersucht worden, aber die genaue Pathogenese bleibt unklar. Wie auch bei anderen systemischen Infektionskrankheiten kommt es durch einen Zytokinsturm über verschiedene Mechanismen zur Schädigung des Gefäßendothels. Diskutiert wird die Aktivierung des Endothels durch Einschwemmen von Neutrophilen und Bildung verschiedener Zytokine und Entzündungsmediatoren, wie zum Beispiel Endothelin-1, Nitritoxid (NO) und C-Typ natriuretisches Peptid (CNP). Im weiteren Verlauf werden verschiedene Gene vermehrt exprimiert und die Gefäßoberfläche wird verändert (Pober und Sessa, 2007). Dies erleichtert die Sequestration parasitierter Erythrozyten.

Herz und Gefäßsystem

Schon in älteren Publikationen wird die Sequestration parasitierter Erythrozyten in den Koronargefäßen von Menschen und Affen erwähnt (Merkel, 1946, Luse und Miller, 1971).

Wie bei der Sepsis sind Herz-Kreislauf-Versagen und kardiale Dysfunktion bekannte Charakteristika einer komplizierten Malaria tropica und gehen mit einer hohen Letalität

einher (WHO, 2000). Im Rahmen eines multifaktoriell bedingten Schocksyndroms entwickeln sich eine erhöhte Gefäßpermeabilität, Hypotonie und Hypovolämie. Ursächlich ist zusätzlich zum Flüssigkeitsverlust bei Hyperpyrexie die vermehrte Ausschüttung von Toxinen und Zytokinen mit nachfolgenden Gefäßleckagen. Die genaue Pathogenese ist noch unklar.

Insgesamt tritt eine kardiale Manifestation bei der Malaria tropica eher selten auf, obwohl bis zu einem Drittel der Patienten Repolarisierungsstörungen im EKG aufweisen. Nur wenige Fälle mit signifikanten Rhythmusstörungen oder Ischämien sind beschrieben worden (Löscher et al., 2010).

Eine im Rahmen einer Malaria tropica auftretende Erhöhung kardialer Enzyme, wie zum Beispiel Troponin T, Kreatinkinase vom Herztyp (CK-MB) und Heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP), konnte in Studien belegt werden. Auch das N-terminale pro Brain natriurale Peptid (NT-proBNP), ein sensitiver Marker für eine eingeschränkte linksventrikuläre Pumpfunktion des Herzens, ist bei Patienten mit einer komplizierten Malaria tropica erhöht (Ehrhardt et al., 2004).

Gerinnungssystem

Laborchemisch zeigt sich bei der Malaria tropica eine prokoagulatorische Aktivität der Gerinnungskaskade, welche mit zunehmender Schwere der Erkrankung gesteigert wird. Dieses Phänomen ist zwar in vielen Studien untersucht worden, die genaue Pathogenese ist aber auch hier weiterhin unklar. Parasitierte Erythrozyten haben möglicherweise einen direkten, prokoagulatorischen Einfluss auf die Gerinnungskaskade. Ähnlich wie bei der Sepsis scheinen ausgeschüttete Zytokine, wie zum Beispiel das Interleukin-6 und Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), als Trigger zu fungieren (Francischetti, 2008). Die Folge ist ein erhöhter Fibrinogenumsatz und der Verbrauch verschiedener, an der Gerinnung beteiligter Proteine, wie zum Beispiel Antithrombin-III. Abbauprodukte des Fibrins, wie zum Beispiel D-Dimere, sind im Serum erhöht zu messen (White, 2009). Überraschenderweise treten Blutungen bei der schweren Malaria tropica, anders als bei der Sepsis, nur bei < 5% der Patienten auf, obwohl formal oftmals die Kriterien einer disseminierten intravasalen Gerinnung erfüllt werden (Toh und Hoots, 2007). Blutungskomplikationen scheinen bei einer Mischinfektion von *P. falciparum* und *P. vivax* oder der Monoinfektion durch *P. vivax* häufiger aufzutreten (Lacerda et al., 2011).

Nervensystem

Die Symptome einer zerebralen Beteiligung, der schwersten Komplikation der Malaria tropica, variieren im Rahmen einer meist diffusen, symmetrischen Enzephalopathie und können sich im Sinne einer leichten Bewusstseinseinschränkung, zerebraler Krampfanfälle und fokaler neurologischer Symptome bis hin zum Koma darstellen. Neurologische Folgeschäden können auftreten (Roze et al., 2001, Santos et al., 2012). Auch behandelt verläuft die zerebrale Malaria noch in 15% - 20% der Fälle letal.

Weitere Manifestationen einer komplizierten Malaria

Klinische Manifestationen, wie zum Beispiel die schwere Anämie, Nieren- und Lungenbeteiligung (Löscher et al., 2010), sollen hier nur erwähnt, aber nicht im Detail beschrieben werden.

1.2 Biomarker

Biomarker sind messbare biochemische oder molekulare Substanzen, die einen pathologischen oder physiologischen Mechanismus oder die Reaktion auf eine therapeutische Intervention beschreiben (Biomarkers Definitions Working Group, 2001). Sie sind Indikatoren für den aktuellen Gesundheitszustand eines Patienten. Sie können als sogenannte diagnostische Biomarker, die die Diagnosestellung einer Erkrankung erleichtern, hilfreich eingesetzt werden. Prognostische Biomarker hingegen erlauben, Aussagen zu treffen über den zu erwartenden Krankheitsverlauf und die Heilungschancen einer Erkrankung. Im Gegensatz dazu können prädiktive Biomarker einerseits zur Ermittlung der Wahrscheinlichkeit, im Verlauf an einer Krankheit zu erkranken, eingesetzt werden. Andererseits verbessern sie möglicherweise die Risikostratifizierung im Krankheitsfall. Im Idealfall sollte ein Biomarker folgende Fähigkeiten besitzen:

- Identifikation von Risikopatienten
- Risikostratifizierung eines Patienten, abhängig von der Schwere des Krankheitsbildes
- Erleichterung der Ermittlung der Prognose im Krankheitsfall
- Erleichterung der Therapiestrategie im Krankheitsfall
- Ermittlung des Risikos für Langzeitkomplikationen.

1.2.1 Untersuchte Biomarker

Untersucht wurden in dieser Arbeit Biomarker, die die *P. falciparum*-spezifische Pathophysiologie, wie zum Beispiel Inflammation, endotheliale und kardiale Dysfunktion und

Koagulopathie, widerspiegeln. Die untersuchten Biomarker können potenziell einerseits eine Progression von einer unkomplizierten zu einer komplizierten Malaria tropica anzeigen und/oder andererseits in der Frühphase der Erkrankung oder bei Erstvorstellung eines Malariapatienten zwischen unkomplizierter und komplizierter Malaria tropica unterscheiden. Folgende Marker wurden in dieser Arbeit untersucht:

1.2.1.1 Marker einer Inflammation

- Copeptin (Carboxy-terminales-pro Arginin Vasopressin)
- PAPP-A (Pregnancy-associated plasma protein-A)
- CRP (C-reaktives Protein)

1.2.1.2 Marker einer Endothelaktivierung

- MPO (Myeloperoxidase)
- Elastase-2
- Endothelin-1
- sICAM-1 (lösliches interzelluläres Adhäsionsmolekül-1)
- sVCAM-1 (lösliches vaskuläres Adhäsionsmolekül-1)

1.2.1.3 Marker einer kardialen Dysfunktion

- NT-proBNP (N-terminales pro-brain natriuretisches Peptid)
- MR-proANP (Midregionales pro-atriales natriuretisches Peptid)

1.2.1.4 Marker einer Koagulopathie

- Fibrinogen
- D-Dimere
- Thrombozytenzahl

1.2.1.5 Hämolysemarker

- LDH (Laktatdehydrogenase)

Eine detaillierte Beschreibung aller untersuchten Biomarker erfolgt im Diskussionsteil dieser Arbeit.

1.3 Fragestellung und Ziele der Studie

Das Spektrum der klinischen Symptomatik bei der Malaria tropica ist wie bereits dargelegt vielfältig. Einige Laborparameter korrelieren zwar mit der Schwere der Erkrankung, jedoch gibt es bisher keine in der Routinediagnostik eingesetzten prognostischen Mar-

ker, die bereits in der Frühphase einen Hinweis auf den Verlauf der Erkrankung geben. Ziel der Studie war es, zu ermitteln, ob verschiedene, bereits etablierte und auch neue Biomarker einerseits zwischen Patienten mit einer Malaria tropica und Gesunden unterscheiden können und ob sie andererseits die Schwere der Krankheitsbilder bei der importierten Malaria tropica abbilden können und so eine Bedeutung hinsichtlich der Prognose und der Risikostratifizierung haben. Die Hypothese, die sich aus dieser Fragestellung ergibt, ist folgende: Wenn die hier untersuchten Biomarker mit der Schwere der Malariaerkrankung korrelieren, dann sind Patienten mit erhöht gemessenen Markern Risikopatienten, auch wenn die WHO- und DTG-Kriterien für eine komplizierte Malaria nicht beachtet würden.

Die Auswahl der Biomarker reflektiert die wichtigsten pathogenetischen Eigenschaften von *P. falciparum*: Inflammation, Endothelaktivierung, Myokardschädigung, Koagulopathie und Hämolyse.

2 Material und Methoden

2.1 Studienort

Die Durchführung der Studie erfolgte am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf in der I. Medizinischen Klinik, Sektion Tropenmedizin. Die Patientengruppe wurde entweder während der stationären Therapie auf der Station M10 (seit 2010 Bernhard-Nocht-Klinik) oder, wie auch alle Probanden der Kontrollgruppe, ambulant in der Bernhard-Nocht-Ambulanz für Tropenmedizin eingeschlossen.

2.2 Krankengut

Zwischen Juni 2007 und Februar 2011 wurden 91 volljährige Patienten gescreent, von diesen wurden 79 Patienten in die Studie eingeschlossen, 12 waren Screening Failures. Eine Auflistung der Ein- und Ausschlusskriterien ist in Tabelle 2 zu finden:

Tab. 2: Ein- und Ausschlusskriterien der Patientengruppe

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> – schriftliche Einverständniserklärung – Alter >18 Jahre – Patienten mit nachgewiesener Malaria tropica im dicken oder dünnen Blutaussstrich 	<ul style="list-style-type: none"> – Vigilanzstörung oder Koma, die ein Aufklärungsgespräch und die Mitarbeit an der Studie unmöglich machten – signifikante Ko-Infektion wie z.B. HIV, Hepatitis B oder C – Krebsleiden – Schwangerschaft

2.3 Kontrollgruppe

Es wurden 41 Probanden in die Kontrollgruppe eingeschlossen. Während eines einmaligen ambulanten Besuchs erfolgten eine körperliche Untersuchung und eine Blutentnahme. Die Einschlusskriterien für die Kontrollgruppe lauten wie folgt:

- Schriftliche Einverständniserklärung
- Alter \geq 18 Jahre
- Keine bekannten signifikanten Infektionen
- Keine bekannte Malariaerkrankung zum Untersuchungszeitpunkt und in der Vorgeschichte.

2.4 Grundlagen der Auswertung

Folgende Punkte wurden bei der Auswertung der Patientengruppe berücksichtigt und innerhalb von 24 Stunden nach dem ersten Arztkontakt im Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf erhoben:

- Angaben zur Person, wie Name, Alter, Geschlecht und Ethnie, welche wichtig zur Einschätzung der Immunität ist.
- Allgemeine Anamnese, wie aktuelle Beschwerden, Vorerkrankungen, regelmäßige Medikamenteneinnahme.
- Reiseanamnese: Reiseland, Dauer der Reise, Grund der Reise.
- Körperliche Untersuchung inklusive Blutdruck, Herzfrequenz, Temperatur.
- Labordiagnostik:
 - Mikroskopische Diagnosestellung einer *P. falciparum*-Infektion im dicken (Dicker Tropfen) oder dünnen Blutaussstrich.
 - Routinediagnostik: Differentialblutbild, Leberwerte, Kreatinin, Harnstoff, Entzündungsparameter, Gerinnungsstatus, bei Fieber > 38,5°C Abnahme aerober und anaerober Blutkulturen.
 - Zur Messung zusätzlicher Parameter erfolgte die Abnahme von Serum, welches bis zum Zeitpunkt der Messung bei -80°C eingefroren wurde. Im Anhang findet sich eine Auflistung der untersuchten Laborwerte.

2.5 Malariadiagnostik

Labordiagnostik

Die mikroskopische Malariadiagnostik erfolgte im Labor Klinisch 1 des Bernhard-Nocht-Instituts für Tropenmedizin in Hamburg. Laborleiter ist Prof. Dr. med. Egbert Tannich.

Durchführung: Der Nachweis der intraerythrozytär zu sehenden Plasmodien erfolgte im Konzentrationsverfahren mikroskopisch durch den Direktnachweis von Plasmodien, entweder im Dicken Tropfen oder im Blutaussstrich. Ein Tropfen EDTA-Blut wurde hierfür auf einen Objektträger aufgetragen und nach Giemsa-Färbung mikroskopisch untersucht. Im Dicken Tropfen sind die Erythrozyten hämolysiert, wodurch eine Speziesdifferenzierung gelegentlich erschwert ist. Diese fällt im Blutaussstrich oft leichter, in dem die Erythrozyten nicht hämolysieren. Der klassische Befund einer Malaria tropica ist die Ringform-Morphologie der Parasiten. Bestimmt wurden die asexuellen Formen der Plasmodien. Gametozyten wurden nicht mitgezählt. Bei einer Parasitämie <1%

erfolgte die Bestimmung der absoluten Zahl im Dicken Tropfen. Bezug genommen wurde hier auf die in 20 - 50 Blickfeldern ausgezählte Leukozytenzahl. Nachfolgend wurde die Parasitenzahl zur Leukozytenzahl in Relation gestellt und als Menge der Parasiten pro Mikroliter Blut angegeben. Bei einer Parasitämie von >1% wurde die Parasitenzahl im dünnen Blutaussstrich ermittelt. Ausgezählt wurde eine Erythrozytenzahl von 300, zu der die ausgezählten parasitierten Erythrozyten in Relation gesetzt wurden. Die Angabe erfolgte in diesem Fall in Prozent.

Klinische Diagnostik

Die klinische Diagnose der Malaria tropica setzte einen Nachweis von Plasmodium falciparum im dicken oder dünnen Blutaussstrich voraus. Fieber und/oder allgemeines Unwohlsein des Patienten waren weitere Kriterien. Zusätzliche signifikante Infektionen als Ursache der Beschwerden wurden ausgeschlossen. Klinisch erfolgte die Einteilung der Malaria nach modifizierten Kriterien der DTG und der WHO in „unkompliziert“ und „kompliziert“ (= schwere Malaria) (DTG, 2011, WHO, 2000, WHO, 2010). Die entscheidenden Kriterien der komplizierten Malaria sind in Tabelle 1 zu finden.

2.6 Weitere Laboruntersuchungen

Folgende Routinelaboruntersuchungen und -messungen wurden nach den dort üblichen Standardverfahren im Institut für Klinische Chemie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf durchgeführt: Differentialblutbild, C-Reaktives Protein, Laktatdehydrogenase, Gerinnungsparameter, Nieren- und Leberfunktionstests. Blutkulturen und andere mikrobiologische Materialien wurden im Institut für Mikrobiologie, Virologie und Hygiene im Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf untersucht.

Im Labor von Dr. Norbert Brattig, Abteilung für Molekulare Medizin des Bernhard-Nocht-Instituts, erfolgte die Bestimmung von sVCAM-1 und sICAM-1. Die Messung von PAPP-A, Copeptin und MR-pro-ANP wurde im Labor Dr. Fenner, Hamburg durchgeführt. Im Kardiologielabor des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf wurden Myeloperoxidase, Elastase-2, Endothelin-1 und NT-proBNP bestimmt.

Folgende Testkits kamen hier zum Einsatz:

Die kommerziell erhältlichen und freundlicherweise teilweise zur Verfügung gestellten Immunfluoreszenz Assays von Thermo Scientific, Hennigsdorf, Deutschland: BRAHMS Copeptin KRYPTOR, PAPP-A KRYPTOR und MR-proANP KRYPTOR. Weiterhin wurden das Human ELISA Kit ELH-sICAM1-001 von RayBio, Norcross, USA, das Human sVCAM-1 Platinum ELISA Kit BMS232 von eBioscience, Frankfurt, Germany, das

PMN-Elastase ELISA Kit BE59311 von IBL-America Minnesota, USA, das Endothelin ELISA Kit BI-20052 von Biomedica, Vienna, Austria, das CardioMPO kit von Cleveland HeartLab 7601, Ohio, USA und das NT-proBNP ELISA Kit Dimension Vista System von Siemens Healthcare Diagnostics Ltd., Camberley, UK eingesetzt.

2.7 Körperliche Untersuchung

Bei allen Patienten wurde eine gründliche körperliche Untersuchung einschließlich neurologischer Untersuchung durchgeführt.

2.8 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse erfolgte mit der SPSS Statistics 17.0 Software (SPSS Inc.® Chicago, IL, USA). Die gemessenen Biomarker wurden zunächst deskriptiv mithilfe von Boxplots untersucht. So konnten Unterschiede zwischen Patienten und gesunden Probanden sowie zwischen Patienten mit komplizierter und unkomplizierter Malaria ermittelt werden. Nachfolgend wurden die Sensitivität und Spezifität grafisch mithilfe einer Receiver Operating Characteristic (ROC)-Kurve analysiert. Die Fläche unterhalb der Kurve (AUROC) und das zugehörige 95%-Konfidenzintervall wurden berechnet. Die als relevant befundenen Parameter wurden in eine binär-logistische Regression eingeschlossen. Die Korrelationen der untersuchten Parameter miteinander wurden mit dem Korrelationskoeffizienten nach Pearson berechnet. Mittels multivariater Analyse unter Einschluss der Kreatininwerte wurde für eine potenziell eingeschränkte renale Eliminierung korrigiert. Aufgrund der stark ausgeprägten Kollinearitäten zwischen den einzelnen Parametern wurde auf eine zusätzliche Analyse mit einem multivariaten Modell verzichtet. Zur Beurteilung der diagnostischen Güte der Marker erfolgte die Berechnung des Youden-Index aus der Sensitivität und Spezifität. Der Cutpoint der Marker wurde über den maximalen Youden-Index ermittelt. Ein p-Wert von $<0,05$ wurde als statistisch signifikant eingestuft.

2.9 Ethik und Datensicherheit

Das positive Ethikvotum erfolgte im Mai 2007 durch die Ärztekammer Hamburg. Jeder Patient und jeder gesunde Proband wurde durch einen Prüfarzt detailliert über den Inhalt, den Ablauf, den potenziellen Nutzen sowie die Risiken der Studie aufgeklärt. Nach Unterschrift der Einverständnis- und Datenschutzerklärung wurde eine Studienakte angelegt, in der alle Patientendaten pseudonymisiert mit einem individuellen Buchstaben- und Nummerncode gesammelt und bearbeitet wurden.

3 Ergebnisse

3.1 Demografische Daten

Von 91 gescreenten, an einer Malaria tropica erkrankten Patienten wurden nach Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien 79 in die Studie eingeschlossen. Unter den 12 (10,9%) Screening failures befanden sich je sechs männliche und weibliche Patienten. Gründe für den Ausschluss aus der Studie waren bei zwei Patientinnen eine vorliegende Schwangerschaft, alle anderen Patienten wurden aufgrund einer signifikanten Ko-Infektion ausgeschlossen. Tabelle 3 zeigt eine Übersicht der Gründe für den Ausschluss aus der Studie.

Tab. 3: Gründe für den Ausschluss aus der Studie (Screening Failures).

	Prostata-Ca	Schwangerschaft	Hepatitis B	HIV	HSV-Pneumonie	Adnexitis	gesamt
Frauen	0	2	2	1	0	1	6
Männer	1	0	2	2	1	0	6
gesamt	1	2	4	3	1	1	12

Zwölf (15,2%) Patienten wurden nach den in Tabelle 1 dargestellten modifizierten Kriterien der DTG und der WHO aus folgenden Gründen als an einer komplizierten Malaria erkrankt eingestuft: zehn hatten eine Hyperparasitämie, ein Patient hatte eine schwere Anämie, vier Patienten zeigten neurologische Symptome und zwei hatten eine Niereninsuffizienz. Auf vier Patienten traf mehr als eines der genannten Kriterien für eine schwere Malaria zu. Neun (75%) der Patienten mit einer komplizierten Malaria tropica hatten entweder einen Migrationshintergrund oder lebten zum Zeitpunkt der Studie im tropischen Ausland. Todesfälle wurden nicht verzeichnet.

Die antiparasitäre und supportive Therapie aller Patienten erfolgte streng nach den Leitlinien der DTG (DTG, 2011).

Das Durchschnittsalter der eingeschlossenen Patienten betrug 43,8 Jahre (Altersbereich 21 - 69 Jahre), 60 (75,9%) Patienten waren männlich.

Vierundfünfzig (68,4%) eingeschlossene Patienten waren afrikanischer, zwei (2,5%) waren asiatischer und 23 (29,1%) waren kaukasischer Herkunft. Neben Asien und Südostasien wurden auch Indien, Arabien und nordostafrikanische Herkunftsländer unter der Region „Asien“ zusammengefasst. Abbildung 1 zeigt die Ethnie der Patienten anhand eines Tortendiagramms.

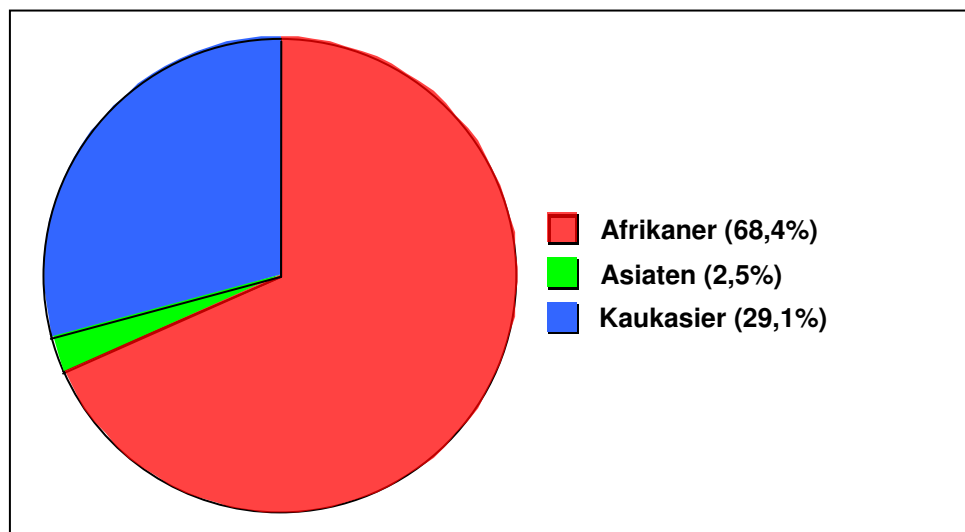


Abb. 1: Ethnie der eingeschlossenen Patienten

3.2 Reiseanamnestische Daten

Mehr als drei Viertel der Patienten (96,2%) zogen sich die Malariaerkrankung in Afrika zu, nur eine Malariainfektion (1,3%) wurde aus Zentralamerika nach Deutschland importiert.

Vier (5,3%) Studienteilnehmer gaben an, eine adäquate Malariaphylaxe eingenommen zu haben: ein Patient mit komplizierter Malaria und zwei Patienten mit unkomplizierter Malaria hatten Mefloquin eingenommen, ein weiterer Patient mit unkomplizierter Malaria bestätigte die Einnahme von Atovaquon/Proguanil.

Bezüglich des Symptombeginns nach Rückkehr der Reise gab es deutliche Unterschiede laut den Angaben der einzelnen Patienten. Mehr als die Hälfte (64,8%) gab an, innerhalb der ersten sieben Tage nach der Rückkehr symptomatisch geworden zu sein, fast ein Viertel (23,0%) erkrankte innerhalb von 7 bis 14 Tagen. Zwischen Tag 14 und 21 nach Rückkehr erkrankten 5,4%, und 6,8% entwickelten erst nach mehr als drei Wochen eine Symptomatik. Von den 12 Patienten mit einer komplizierten Malaria erkrankten neun (81,8%) innerhalb der ersten Woche nach Reiserückkehr.

Gründe für die Reise in ein Malariaendemiegebiet waren für Patienten mit Migrationshintergrund unter anderem der Besuch von Familie und Freunden, für die Kaukasier wurden hauptsächlich geschäftliche oder touristische Gründe angegeben.

3.3 Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe setzte sich aus 41 gesunden Probanden zusammen, von denen alle in Deutschland lebende Kaukasier waren. Das Durchschnittsalter betrug 32,51 Jahre (Altersbereich 18 – 72 Jahre).

Tabelle 4 zeigt einen Überblick über die demografischen Daten der Studienteilnehmer.

Tab. 4: Demografische Daten aller Studienteilnehmer

	Malaria (n=79)	CM (n=12)	UM (n=67)	Kontroll- len (n=41)	p-Wert*
Geschlecht, männlich / weiblich	60 / 19	7 / 5	53 / 14	17 / 24	< 0,001
Alter (Range)	43,8 (21 – 69)	51,7 (29 – 69)	42,4 (21 – 65)	32,5 (18 – 72)	< 0,001
Reiseziel, n (%)					
Afrika	76 (96,2)	11 (100,0)	65 (98,5)		
Mittelamerika	1 (1,3)	0	1 (1,5)	NA	NA
Reisedauer, Tage (%)					
< 7	4 (5,5)	0	4 (6,25)		
7 - 14	9 (12,3)	2 (22,2)	7 (10,9)		
14 - 21	7 (9,6)	2 (22,2)	5 (7,8)		
> 21	53 (72,6)	5 (55,6)	48 (75,0)	NA	NA
Zeit bis Symptombildung, Tage (%)					
< 7	48 (64,8)	9 (81,8)	39 (61,9)		
7 - 14	17 (23,0)	2 (18,2)	15 (23,8)		
14 - 21	4 (5,4)	0	4 (6,3)		
> 21	5 (6,8)	0	5 (7,9)	NA	NA
Malariaprophylaxe, n (%)	4 (5,3)	1 (9,1)	3 (4,6)	NA	NA

NA = not applicable; SD = Standardabweichung; Malaria = alle Malariapatienten; CM = komplizierte Malaria; UM = unkomplizierte Malaria; *Vergleich der Mittelwerte (\pm SD) zwischen Malariapatienten (alle) und den gesunden Kontrollen (t-Test)

3.4 Klinische Befunde

Verglichen mit der Kontrollgruppe waren folgende Parameter in der Patientengruppe signifikant erhöht:

- Herzfrequenz: Die mittlere Herzfrequenz der Patienten lag bei 90 Schlägen pro Minute, die der Gesunden bei 70 Schlägen pro Minute ($p < 0,001$).
- Temperatur: Die Körpertemperatur der Patienten lag im Mittel bei 37,8°C, die der gesunden Kontrollen bei 36,5°C ($p < 0,001$).

Hinsichtlich des mittleren arteriellen systolischen Blutdrucks zeigte sich mit einem Wert von 122,4 mmHg für die Kontrollgruppe und 119,6 mmHg für die Patientengruppe ($p = 0,283$) kein signifikanter Unterschied. Tabelle 5 gibt einen Überblick über die klinischen Daten der Studienteilnehmer.

Tab. 5: Vitalzeichen aller Studienteilnehmer

	Malaria (n=79)	CM (n=12)	UM (n=67)	Kontroll- len (n=41)	p-Wert*
Körpertemperatur °C (\pmSD)	37,8 (1,2)	37,9 (1,2)	37,8 (1,2)	36,5 (0,4)	< 0,001
Systolischer Blutdruck mmHg (\pmSD)	119,6 (16,0)	118,9 (11,8)	119,7 (16,7)	122,4 (11,7)	0,283
Herzfrequenz, Schläge/min (\pmSD)	90 (18)	92,5 (18,5)	89,6 (17,6)	70 (8,4)	< 0,001

SD = Standardabweichung; Malaria = alle Malariapatienten; CM = komplizierte Malaria; UM = unkomplizierte Malaria; *Vergleich der Mittelwerte (\pm SD) zwischen Malariapatienten (alle) und den gesunden Kontrollen (t-Test)

3.5 Laborergebnisse

3.5.1 Allgemeine Laborergebnisse

Hinsichtlich der in der Regel im Rahmen einer Malariaerkrankung getesteten Standard-Laborparameter wie Hämoglobin, Leukozyten, Thrombozyten, Leberenzyme, Gesamt-Bilirubin und Kreatinin wurden signifikant veränderte Werte ermittelt.

- Blutbild: Bei insgesamt 45 (56,9%) Patienten konnte eine Anämie festgestellt werden. Darunter waren 8 (17,8%) Patienten mit einer komplizierten Malaria. Grenzwerte waren hier für Frauen (w) ein Hb <123 g/l und bei Männern (m) <140 g/l. Von 29 (36,7%) leukopenischen Patienten (Leukozytenzahl <3.800/ μ l), befand sich einer (5,8%) unter den Patienten mit einer komplizierten Malaria. Eine Thrombopenie (Thrombozyten <150.000/ μ l) hatten 64 (81%) der Patienten, darunter waren 9 (14,2%) mit einer komplizierten Malaria tropica.
- Leberwerte: 46 Patienten (62,1%) wiesen eine Hyperbilirubinämie (Grenzwert: Bilirubin gesamt >1 mg/dl) vor, 7 (15,2%) befanden sich unter den Patienten mit einer komplizierten Malaria. AST war bei 31 (39,2%) erhöht, darunter 5 (16,1%) Patienten mit komplizierter Malaria. Eine ALT-Erhöhung zeigten 22 (27,8%) der Patienten, es

befanden sich 6 (27,3%) davon in der Gruppe der kompliziert Erkrankten. Als Grenzwerte für AST und ALT galten $w > 35$ U/l und $m > 50$ U/l.

- Nierenwerte: Eine eingeschränkte Nierenfunktion mit einem erhöhten Kreatinin (Grenzwerte: $w > 0,9$ mg/dl, $m > 1,1$ mg/dl) konnte bei 36 (46,2%) Patienten festgestellt werden. Darunter waren 6 (16,7%) Patienten aus der Gruppe mit einer komplizierten Malaria tropica.

Alle in dieser Studie untersuchten Laborwerte sind zur Übersicht im Anhang aufgelistet. Tabelle 6 zeigt ausgewählte pathologische Laborwerte aller Studienteilnehmer.

Die mittlere Parasitendichte (geometric mean parasite density = GMPD) aller eingeschlossenen Patienten betrug 97.974/ μ l. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Patienten mit einer komplizierten Malaria (GMPD = 407.028/ μ l) und den Patienten mit einer unkomplizierten Malaria (GMPD = 41.783/ μ l), der p-Wert betrug $< 0,001$.

Tab. 6: Ausgewählte pathologische Laborwerte aller Studienteilnehmer, gemessen innerhalb von 24h nach Erstvorstellung

	Malaria (n=79)	CM (n=12)	UM (n=67)	Kontrollen (n=41)	p-Wert*
Hämoglobin g/l (\pmSD)	131,6 (19,3)	121,4 (25,0)	133,5 (17,7)	137,8 (11,0)	0,030
Thrombozyten x1000/μl (\pmSD)	96,6 (63,0)	52,6 (33,4)	104,4 (63,9)	250,2 (87,1)	$< 0,001$
Leukozyten x1000/μl (\pmSD)	5,5 (2,3)	5,8 (2,3)	5,4 (2,3)	6,3 (1,1)	0,014
Parasitendichte Parasiten/μl (\pmSD)	97.974 (176.183)	407.028 (274.253)	41.783 (56.595)	NA	$< 0,001$
Bilirubin gesamt mg/dl (\pmSD)	1,7 (1,2)	2,6 (1,6)	1,5 (1,1)	0,7 (0,5)	$< 0,001$
ALT U/l (\pmSD)	44,9 (30,7)	68,0 (45,9)	40,8 (25,4)	23,8 (13,2)	$< 0,001$
AST U/l (\pmSD)	51,8 (50,6)	108,6 (105,9)	41,7 (21,6)	25,3 (5,9)	$< 0,001$
Kreatinin mg/dl (\pmSD)	1,1 (0,4)	1,6 (0,8)	1,1 (0,2)	0,8 (0,1)	$< 0,001$

NA = not applicable; SD = Standardabweichung; Malaria = alle Malariapatienten; CM = komplizierte Malaria; UM = unkomplizierte Malaria; *Vergleich der Mittelwerte (\pm SD) zwischen Malariapatienten (alle) und den gesunden Kontrollen (t-Test)

3.5.2 Biomarker

Vergleich alle Malariapatienten versus Kontrollgruppe

Folgende Biomarker waren signifikant erhöht in der Patientengruppe: Copeptin, CRP, MPO, Elastase-2, Endothelin-1, sICAM-1, sVCAM-1, NT-proBNP, MR-proANP, Fibrinogen, D-Dimere und LDH. Die Ergebnisse für PAPP-A zeigten keinen signifikanten Unterschied.

Die diagnostische Güte und die Trennschärfe wurden über die Fläche unter der ROC-Kurve (AUROC) und die dazugehörigen 95%-Konfidenzintervalle ermittelt. Unabhängig von der Schwere der Krankheitsbilder (kompliziert oder unkompliziert), konnte in der Gruppe der Malariapatienten für folgende Marker die größte Fläche unter der Kurve dargestellt werden: CRP (AUROC = 1,00), MPO (AUROC = 0,99), D-Dimere (AUROC = 0,98), Elastase -2 (AUROC = 0,98) und sICAM-1 (AUROC = 0,98). Die AUROC-Werte für LDH, Thrombozyten, sVCAM, Copeptin und Fibrinogen lagen geringfügig niedriger, die von Endothelin-1, NT-proBNP und MR-proANP deutlich darunter. Die einzelnen Ergebnisse sind in den Tabellen 7 und 8 dargestellt.

Vergleich komplizierte versus unkomplizierte Malaria tropica

Ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen konnte für folgende Biomarker aufgezeigt werden: CRP, MPO, sICAM-1, sVCAM-1, D-Dimere, Thrombozyten und LDH. Die weitere Analyse dieser Marker mittels ROC-Kurve ergab jedoch breite Vertrauensintervalle, was als Hinweis für eine unzureichende prognostische Güte der einzelnen Werte zu deuten ist. Für Copeptin, Elastase-2 und Fibrinogen konnten keine signifikant unterschiedlichen Ergebnisse aufgezeigt werden. Eine Übersicht über die ermittelten Ergebnisse dieser Gruppen liefert Tabelle 7.

Tab. 7: Biomarker in Patienten mit komplizierter und unkomplizierter Malaria tropica, gemessen innerhalb von 24 Stunden nach Erstvorstellung

	CM UM	Anzahl (n)	Median	AUROC	95% CI		p- Wert*
MARKER EINER INFLAMMATION							
PAPP-A (IU/l)	CM	12	9,1	0,769	0,589	0,950	0,003
	UM	67	6,0				
Copeptin (pmol/l)	CM	12	12,5	0,596	0,420	0,771	0,293
	UM	67	8,9				
CRP (mg/l)	CM	12	165,5	0,771	0,645	0,896	0,003
	UM	67	78,0				
MARKER EINER ENDOTHELAKTIVIERUNG							
MPO (pmol/l)	CM	12	4747,8	0,699	0,569	0,829	0,029
	UM	67	2827,1				
Elastase-2 (ng/ml)	CM	12	2850,5	0,562	0,416	0,708	0,495
	UM	67	3227,0				
Endothelin-1 (fmol/ml)	CM	12	1,2	0,505	0,325	0,685	0,956
	UM	67	1,2				
sICAM-1 (ng/ml)	CM	12	257,0	0,784	0,650	0,919	0,003
	UM	67	136,4				
sVCAM-1 (ng/ml)	CM	12	1657,5	0,752	0,604	0,900	0,006
	UM	67	1020,0				
MARKER EINER KARDIALEN DYSFUNKTION							
NT-proBNP (pg/ml)	CM	12	204,5	0,752	0,596	0,909	0,006
	UM	67	56,0				
MR-pro-ANP (pmol/l)	CM	12	82,5	0,738	0,581	0,894	0,009
	UM	67	43,0				
MARKER EINER KOAGULOPATHIE							
Fibrinogen (g/l)	CM	12	4,7	0,482	0,287	0,676	0,842
	UM	59	5,0				
D-Dimere (mg/l)	CM	7	3,7	0,775	0,643	0,915	0,019
	UM	51	1,4				
Thrombozyten (x1000/ μ l)	CM	12	51,0	0,777	0,646	0,908	0,002
	UM	67	91,0				
HÄMOLYSEMARKER							
LDH (U/l)	CM	12	385,0	0,810	0,697	0,924	<0,001
	UM	65	260,0				
GMPD (Parasiten/ μ l)	CM	12	255.946	0,926	0,826	1,000	<0,001
	UM	66	10.635				

95% CI = 95% Konfidenzintervall für AUROC; GMPD = geometric mean parasite density

*p-Wert für AUROC

4 Diskussion

Die in dieser Studie untersuchten Biomarker eignen sich, bezogen auf die Differenzierung zwischen Patienten mit importierter *Malaria tropica* und Gesunden, bis auf das PAPP-A alle gut als diagnostische Marker. Hilfreich ist diese Eigenschaft insbesondere bei Patienten, die sich zum Beispiel in der Frühphase der Erkrankung vorstellen und bei denen trotz eines negativen mikroskopischen Direktnachweises aufgrund der Reiseanamnese und der deutlich auf eine Malaria hinweisenden Klinik der hochgradige Verdacht auf eine *Malaria tropica* bestehen bleibt.

Die *Malaria tropica* ist eine Multisystemerkrankung und der Endothelaktivierung kommt pathophysiologisch eine große Rolle zu. Ähnliche pathophysiologische Phänomene sind bei der Sepsis zu finden. Dies erklärt unter anderem, warum die Mehrzahl der in dieser Studie gemessenen Marker gute diagnostische diskriminatorische Fähigkeiten aufweist.

Keiner der in dieser Arbeit untersuchten Biomarker eignet sich als prädiktiver oder prognostischer Biomarker.

In der Literatur wurden bereits einige andere inflammatorische oder endotheliale Biomarker mit prädiktiver Aussagekraft bei der *Malaria Tropica* beschrieben. Als Beispiel seien Angiopoietin-2, sFlt-1 (lösliche FMS-like tyrosine kinase-1), Procalcitonin, IP-10 (Interferon-gamma induced protein 10 kD) und löslicher TREM-1 (Triggering receptor expressed on myeloid cells-1) oder auch die Kombination dieser Biomarker genannt (Erdmann et al., 2011, Conroy et al., 2012). In der Routinediagnostik werden sie aber ebenfalls noch nicht eingesetzt. Die Untersuchung der Marker erfolgte bisher nur in Endemiegebieten an Kindern und nicht, wie in dieser Studie, an Reisenden.

4.1 Untersuchte Biomarker

4.1.1 Marker einer Inflammation

Inflammatorische Prozesse sind maßgeblich an der klinischen Ausprägung einer Infektion mit *P. falciparum* beteiligt. Koinfektionen treten im Rahmen der Malariaerkrankung häufig auf (Bruneel et al., 2010). Zur Gewinnung akkurater Ergebnisse für inflammatorische Prozesse in der Patientengruppe wurden Patienten mit Koinfektionen aus der Studie ausgeschlossen.

Copeptin

Das Protein Copeptin ist das C-terminale Fragment des Präpro-Hormons von Vasopressin (Antidiuretisches Hormon = ADH) und ist somit Surrogatmarker für zirkulierendes ADH, dessen Messung technisch anspruchsvoller und teurer ist. Als potenter Vasokonstriktor wirkt Vasopressin antidiuretisch. Die Messung von Copeptin ist nicht nur zur Abklärung eines gestörten Elektrolythaushalts sinnvoll, es wird auch im Rahmen akuter Infektionskrankheiten als Reaktion auf endogenen Stress freigesetzt. So korreliert ein erhöhter Spiegel zum Beispiel mit der Schwere einer Sepsis (Struck et al., 2005) oder einer Leptospirose (Limper et al., 2010). In einer kürzlich erschienenen Studie wurde belegt, dass Copeptin bei der importierten Malaria nicht mit der Schwere der Erkrankung korreliert (van Wolfswinkel et al., 2012). Erhöhte Spiegel finden sich auch im Rahmen verschiedener Myokarderkrankungen (Nickel et al., 2012, von Haehling et al., 2012), beim akuten Koronarsyndrom gilt Copeptin als starker Prädiktor für Mortalität und die Entwicklung einer manifesten Herzinsuffizienz (Khan et al., 2007). Auch beim Schlaganfall scheint Copeptin eine Rolle zu spielen (Morgenthaler, 2010).

Die Messung von Copeptin in der Patientengruppe dieser Arbeit ergab signifikant erhöhte Spiegel in der Gruppe aller Malariapatienten, aber nur eine niedrige Sensitivität und Spezifität hinsichtlich des Schweregrades der Erkrankung. Wie bereits vorher beschrieben, war eine Unterscheidung zwischen komplizierter und unkomplizierter Malaria anhand des Copeptinspiegels nicht möglich.

Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A)

PAPP-A ist eine Zink bindende Matrix-Metalloproteinase, die unter anderem im Synzytiotrophoblasten schwangerer Frauen gebildet und im ersten Trimenon zum Ausschluss chromosomaler Anomalien im Plasma gemessen wird. Ein erniedrigter Wert kann zum Beispiel auf eine Trisomie-21 hinweisen. Neuere Studien belegen, dass PAPP-A im Rahmen einer Herzinsuffizienz erhöht und beim akuten Koronarsyndrom in instabilen oder rupturierten Plaques und extrazellulärer Matrix von Koronararterien nachweisbar ist. Als Aktivator des Insulin-like growth Factors-1 wirkt es potenziell proatherosklerotisch (Bayes-Genis et al., 2001, Funayama et al., 2011, Schaub et al., 2012). Bei Hämodialyse-Patienten korrelieren erhöhte PAPP-A-Werte mit einer erhöhten Mortalität (Etter et al., 2010). Eine signifikante Erhöhung von PAPP-A konnte bei Schwangeren mit einer HIV- oder Hepatitis B- Koinfektion im Vergleich zu gesunden Schwangeren nicht gemessen werden (Savvidou et al., 2010, Cheng et al., 2010). Die Bedeutung von PAPP-A in der Malarialogie war bisher unerforscht.

In dieser Studie wurden im Vergleich zu den gesunden Kontrollen zwar keine erhöhten Wirkspiegel in der Patientengruppe gemessen, jedoch war der PAPP-A-Spiegel bei den Patienten mit einer komplizierten Malaria signifikant erhöht im Vergleich zu denen mit einer unkomplizierten Malaria. Diese Ergebnisse sind widersprüchlich, denn es handelt sich um einen Marker, der im Normalfall nicht im Serum von Gesunden gefunden wird. Möglicherweise sind Messfehler die Ursache für diese Ergebnisse. Die Untersuchung von PAPP-A in einer größeren Patientengruppe zur Verifizierung der Ergebnisse erscheint sinnvoll.

C-Reaktives Protein (CRP)

Das gut erforschte Akut-Phase-Protein CRP wird in der Leber gebildet und im Rahmen von Entzündungsreaktionen vermehrt produziert. Ein erhöhter Wert ist nicht spezifisch für bestimmte Erreger, korreliert aber unter anderem mit der Schwere entzündlicher Erkrankungen. Stärkster Stimulus sind bakterielle Infektionen, aber auch bei der Malaria sind erhöhte Werte beschrieben worden (Löscher et al., 2010). Gut untersucht ist das CRP bei der Sepsis, bei der ein erhöhter Spiegel mit der Schwere der Sepsis korreliert, und bei kardiovaskulären Erkrankungen, bei denen es mit einer erhöhten Mortalität einhergeht (Anzai et al., 1997, Castelli et al., 2004, Suleiman et al., 2006, Uusitalo-Seppala et al., 2011).

In dieser Studie konnten für CRP die besten Ergebnisse ermittelt werden. Signifikant unterschied sich der Median in der Gruppe der Malariapatienten im Vergleich zur Kontrollgruppe. Passend dazu betragen Sensitivität und Spezifität jeweils 100%. Ein signifikanter Unterschied wurde auch bei der komplizierten und der unkomplizierten Malaria ermittelt, jedoch konnte eine gute diskriminatorische Aussagekraft hinsichtlich der Schwere der Erkrankung anhand der ROC-Analyse nicht dargestellt werden.

Vielerorts wird die CRP-Messung routinemäßig im Rahmen der Standard-Laboruntersuchungen im ambulanten sowie stationären Bereich durchgeführt. Sie ist preisgünstig und einfach durchführbar. Jedoch liegt der in dieser Arbeit ermittelte Cut-point von 10,8 mg/l im eher niedrigen Bereich und kann im Rahmen vieler Erkrankungen und inflammatorischer Geschehen vorgefunden werden. So zum Beispiel auch bei Rauchern, bei denen eine Aktivierung des Immunsystems vorliegt (Tonstad und Cowan, 2009).

4.1.2 Marker einer Endothelaktivierung

Myeloperoxidase (MPO)

MPO ist ein Hämprotein und spielt als Enzym der neutrophilen Granulozyten und des Monozyten-Makrophagensystems eine Rolle bei der Regulation und Terminierung von Entzündungsprozessen. MPO hat, wahrscheinlich bedingt durch eine positive Oberflächenladung, eine hohe Affinität zu Endothelzellen und zur Leukozytenoberfläche (Klinke et al., 2011). Bei Herz- und Nierenkrankheiten wurden erhöhte MPO-Spiegel in atheromatösen Plaques gemessen, hier fungiert es als Verbindungsglied zwischen oxidativem Stress, endothelialer Dysfunktion und Inflammation (Maruyama et al., 2004). Bei hospitalisierten Patienten mit einem interventionell behandelten ST-Hebungsinfarkt ist ein erhöhter Spiegel Prädiktor für eine erhöhte Letalität (Stankovic et al., 2012). Auch im Rahmen einer Sepsis und verschiedener Infektionskrankheiten, wie zum Beispiel der Brucellose und Infektion mit HIV, werden erhöhte MPO-Spiegel gemessen (Kothari et al., 2011, Karahocagil et al., 2012, Borato et al., 2012).

Zur Leukozyten- und Endothelaktivierung mit erhöhten MPO-Spiegeln kommt es ebenfalls bei der Malariaerkrankung (Mohammed et al., 2003). In dieser Arbeit zeigten sich in der Patientengruppe sehr hohe MPO-Werte, ein Hinweis auf Gefäßschädigung und Inflammation. MPO kann ebenfalls zwischen komplizierter und unkomplizierter Malaria unterscheiden, allerdings mit deutlich geringerer Signifikanz ($p = 0,029$) und breitem 95%-Konfidenzintervall. Als prognostischer Test erscheint MPO aufgrund niedriger diskriminatorischer Aussagekraft also ungeeignet.

Elastase-2

Elastasen sind in Infektsituationen als Proteasen ein wichtiger Bestandteil der Immunantwort auf bestimmte Erreger. Von den neun beim Menschen bekannten Elastasen wurde in dieser Arbeit die neutrophile Elastase-2 untersucht. Sie wird durch Leukozytenaktivierung bei entzündlichen Prozessen, wie dem Systemischen Inflammatorischen Response Syndrom (SIRS) (Dollery et al., 2003, Gando et al., 2007), bei verschiedenen Gefäßerkrankungen und im Rahmen einer Disseminierten Intravasalen Koagulopathie (DIC) erhöht gemessen (Hayakawa et al., 2011).

Frühere Untersuchungen bei Malariapatienten konnten darlegen, dass die Elastase-2 im Zusammenspiel mit Tumornekrosefaktor- α antiparasitäre Eigenschaften besitzt und auch eine Rolle bei der Organmanifestation spielt (Janoff et al., 1988, Pukrittayakamee et al., 1992, Hemmer et al., 2006).

In dieser Arbeit konnten signifikant erhöhte Ergebnisse für Elastase-2-Spiegel in der Patientengruppe gezeigt werden, mit sehr guten diskriminatorischen Eigenschaften. Jedoch ergab die weitere Analyse hinsichtlich der Schwere der Erkrankung keine ausreichend hohe diskriminatorische Fähigkeit.

Endothelin-1

Endotheline sind Proteine und können von vielen verschiedenen Zellen gebildet werden. Zu ihren Aufgaben gehören unter anderem die Regulation des Gefäßtonus, die Mitwirkung bei der Zell- und Gewebeproliferation und die Reparatur beschädigten Gewebes. Im Rahmen einer Entzündungsreaktion sind sie auch als Entzündungsmediatoren tätig (Kedzierski und Yanagisawa, 2001). Das in dieser Arbeit untersuchte Endothelin-1 wird in Endothelzellen produziert und gilt als hochpotenter Vasokonstriktor im Herz-Kreislaufsystem. Es wird über Zwischenstufen aus pro-Endothelin gebildet, Trigger ist wahrscheinlich eine Gewebshypoxie. In mehreren Untersuchungen zur Sepsis und zu anderen Infektionskrankheiten, wie der Chagas-Krankheit, sind erhöhte Endothelin-Spiegel gemessen worden (Wittner et al., 1995, Wanecek et al., 2000). Dietman et al. konnten zeigen, dass bei gabunesischen Kindern mit einer Malaria tropica die Endothelin-1-Spiegel im Vergleich zu gesunden Kindern erhöht sind (Dietmann et al., 2008). In einer anderen Arbeit wurden bei Patienten mit komplizierter Malaria ebenfalls erhöhte Endothelin-1-Spiegel gemessen (Wenisch et al., 1996).

In unserer Patientengruppe war Endothelin-1 im Vergleich zur Kontrollgruppe ebenfalls signifikant erhöht. Aufgrund eines breiten 95%-Konfidenzintervalls ist der Test jedoch nur als durchschnittlich zu bewerten. Die Endothelin-1-Spiegel waren in beiden Patientengruppen gleich.

Zelladhäsionsmoleküle

Zelladhäsionsmoleküle des Immunsystems sind auf Endothelzellen gebildete Oberflächenrezeptoren, die die Verbindung verschiedener Zellen miteinander ermöglichen. Sie steuern die Leukozytenadhäsion und die Akquirierung von Leukozyten in Entzündungsgebiete. Somit spielen sie eine wichtige Rolle bei der Einleitung einer Immunantwort des Körpers. Messbar ist ihre lösliche Form im Blut. Bei der Sepsis wie auch bei der Malaria tropica wird das Endothel aktiviert und es werden vermehrt Adhäsionsmoleküle gebildet. Bei der Malaria tropica geschieht dies unter anderem entweder durch direkte Wirkung parasitierter Erythrozyten oder durch Endothelschaden mit Ausschüttung von Zytokinen, die wiederum Einfluss auf die Regulation des Adhäsionsmolekül-Haushalts haben (Turner et al., 1998). Im Gegensatz zu Gesunden zeigen sich bei an

Malaria tropica Erkrankten erhöhte Spiegel der löslichen Form von Interzellulärem Adhäsionsmolekül-1 (sICAM-1) und Vaskulärem Adhäsionsmolekül-1 (sVCAM-1). Ob es hierbei einen signifikanten Unterschied zwischen einer unkomplizierten und einer komplizierten Malaria gibt, wird in Studien kontrovers diskutiert (Vogetseder et al., 2004, Tchinda et al., 2007).

Lösliches interzelluläres Adhäsionsmolekül-1 (sICAM-1)

Dieses Glykoprotein gehört zur Immunoglobulin-Superfamilie der Zelladhäsionsmoleküle und agiert bei der Malaria tropica als Rezeptor für parasitierte Erythrozyten. Es spielt eine zentrale Rolle bei der Immunantwort, fast alle Patientenisolate können an diesen Rezeptor binden. Die proinflammatorischen Enzyme TNF- α , Interferon-gamma, und Interleukin-1 (IL-1) können eine Hochregulation des Proteins bewirken. Zu finden ist es in hoher Zahl auf Endothelzellen des venösen Gefäßsystems, wo es die Adhäsion von Neutrophilen an das Endothel erleichtert. So auch bei der zerebralen Malaria tropica, bei der es verstärkt lokal im zerebralen Gefäßsystem gebildet wird (Ho und White, 1999, Löscher et al., 2010). Eine Messung von sICAM-1 erscheint daher im Rahmen einer komplizierten Malaria nicht sinnvoll, welche zum Beispiel durch eine schwere Anämie ohne zerebrale Beteiligung definiert ist. Die Frage, ob bestimmte Biomarker also spezifisch sind für die Manifestation zum Beispiel einer Malaria-Anämie oder einer zerebralen Malaria, kann nur anhand von Folgestudien mit einer hohen Anzahl von Studienteilnehmern und deren Einteilung in Subgruppen nach WHO-Kriterien beantwortet werden.

Lösliches vaskuläres Adhäsionsmolekül-1 (sVCAM-1)

Dieses integrale Membranprotein wird ebenfalls bei der Malaria tropica im Rahmen der Sequestrierung parasitierter Erythrozyten hochreguliert, jedoch binden nur wenige Patientenisolate an dieses Protein (Boehme et al., 1994, Ho und White, 1999, Löscher et al., 2010).

Auch für sICAM-1 und sVCAM-1 fanden sich signifikant erhöhte Werte in der Gruppe der mit *P. falciparum*-Infizierten. Dabei konnten für sICAM-1 etwas bessere Ergebnisse erzielt werden. Eine gute Korrelation der gemessenen Werte mit der Schwere der Erkrankung konnte aufgrund der breit gestreuten 95%-Konfidenzintervalle weder für sICAM-1 noch für sVCAM-1 festgestellt werden. Eine prädiktive oder prognostische Aussagekraft ergibt sich somit nicht.

4.1.3 Marker einer kardialen Dysfunktion

Der genaue Mechanismus der Myokardschädigung und dadurch verminderter Herzleistung bei der *Malaria tropica* ist noch nicht eindeutig geklärt. Verschiedene Faktoren tragen dazu bei. Diskutiert wird eine direkt-toxische Wirkung auf die Struktur der Herzmuskelzellen durch von *P. falciparum* freigesetzte Toxine, wie zum Beispiel das Glykosylphosphatidylinositol (Wichmann et al., 2007). Eine Ursache der erhöhten Herzmuskelwandspannung könnte die erhöhte Nachlast und nachfolgend die erhöhte Druckbelastung des linken Ventrikels sein (Herr et al., 2011). Die Einschränkung der Herzfunktion ist biochemisch messbar unter anderem durch die hier getesteten kardialen Marker NT-proBNP und MR-proANP. Weitere Herzenzyme, wie das Troponin, wurden in dieser Arbeit nicht untersucht. Somit kann keine Aussage getroffen werden hinsichtlich eines relevanten Untergangs der Herzmuskelzellen und dessen Reversibilität.

NT-proBNP

NT-proBNP ist ein im Serum stabil und länger messbarer Surrogatmarker des Brain natriuretischen Peptids (BNP). BNP wird in den Ventrikelwänden des Herzens gebildet und reguliert unter anderem den Salz- und Wasserhaushalt und den systemischen Blutdruck. Bei Volumenbelastung des Herzens oder in Stresssituationen des Myokards wird es infolge eines Dehnungsreizes vermehrt gebildet. Das in die Blutbahn ausgeschüttete Prohormon proBNP wird in aktives BNP und sein N-terminales Fragment NT-proBNP gespalten. Eingesetzt wird es unter anderem zur Ausschluss- und Verlaufsdagnostik der Herzinsuffizienz (Dao et al., 2001, Nielsen et al., 2004). Bei der *Malaria tropica* konnten als Hinweis auf eine begleitende Myokardschädigung erhöhte Werte gemessen werden (Ehrhardt et al., 2004, Ehrhardt et al., 2005)

MR-proANP

MR-proANP ist ein inaktives Spaltprodukt des Prohormons des atrialen natriuretischen Peptids (ANP). Es ist stabiler messbar als sein aktiver Spaltproduktpartner ANP. ANP wird in den Zellen der kardialen Vorhöfe gebildet, nach Dehnungsreiz der Vorhöfe ausgeschüttet und reguliert den Salz- und Wasserhaushalt des Körpers (Silbernagl und Despopoulos, 1991). Ähnlich wie das NT-proBNP ist auch das MR-proANP bei Patienten mit einer Herzinsuffizienz erhöht und hat eine gewisse prognostische Aussagekraft. Erhöhte Werte korrelieren mit einer erhöhten Mortalität (von Haehling et al., 2007). Auch im Rahmen verschiedener Infektionskrankheiten kann MR-proANP erhöht sein. Bei der ambulant erworbenen Pneumonie steigt der MR-proANP-Spiegel mit zunehmendem Schweregrad der Erkrankung an, bei Bakteriämie hat ein erhöhter Spiegel

keinen zusätzlichen prognostischen Wert (Guinard-Barbier et al., 2011). Im Rahmen eines septischen Schocks hat MR-proANP eine prognostische Aussagekraft hinsichtlich der Mortalität innerhalb der ersten 28 Tage (Guignant et al., 2010).

Die Rolle von MR-proANP bei der Malariainfektion ist bisher unerforscht.

Im Vergleich zur Kontrollgruppe konnten in dieser Arbeit als Hinweis auf eine kardiale Beteiligung beide Marker in der Patientengruppe erhöht gemessen werden. Auch hier hat die weitere Analyse keine guten diskriminatorischen Eigenschaften ergeben, weder beim Vergleich der Patientengruppe mit der Kontrollgruppe noch beim Vergleich der Patienten mit komplizierter und unkomplizierter *Malaria tropica*. Es ist also anzunehmen, dass die schwere *Malaria tropica* nicht immer mit einer Herzbeteiligung einhergeht.

4.1.4 Marker einer Koagulopathie

Fibrinogen

Als Marker einer Koagulopathie bei der *Malaria tropica* wurde in dieser Arbeit das Fibrinogen untersucht. Dieses in der Leber gebildete Glykoprotein tritt als Faktor I in die Gerinnungskaskade ein. Mithilfe des Enzyms Thrombin und Kalzium erfolgt die Umwandlung zum Fibrin, welches notwendig ist für die Vernetzung der Thrombozyten bei der Ausbildung des sekundären Thrombus. Fibrinogen ist in zweierlei Hinsicht ein bedeutendes, im Serum messbares Protein. Einerseits ist es ein Akut-Phase-Protein. Im Rahmen einer Infektion, wie auch bei der *Malaria tropica*, bildet sich durch verschiedene Trigger vermehrt Fibrinogen (Horstmann und Dietrich, 1985, White, 2009). Dieses Phänomen ist sehr unspezifisch. Auf der anderen Seite weist ein im Rahmen einer Infektion erworbener Fibrinogenmangel auf eine Störung des Gerinnungssystems mit überschießendem Fibrinogenverbrauch hin (Hazelzet et al., 2001). Im schlimmsten Fall kommt es zur disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC), zu Blutungen und/oder Thromboembolien.

D-Dimere

Im Rahmen der Fibrinolyse wird Fibrin durch die Endopeptidase Plasmin gespalten, als Abbauprodukte entstehen unter anderem D-Dimere, die im Serum messbar sind und somit auf eine ablaufende Fibrinolyse hindeuten. Auch bei der *Malaria tropica* ist in mehreren Studien die intravaskuläre Fibrinbildung über die Messung der D-Dimere im Serum nachgewiesen worden (Horstmann und Dietrich, 1985, Francischetti et al., 2008).

Thrombozyten

Obwohl die Thrombopenie nicht zu den DTG- und WHO-Kriterien einer komplizierten *Malaria tropica* gehört, stellt sie eine der häufigsten Komplikationen dar. Anders als bei der Sepsis entwickelt sich jedoch sehr selten eine disseminierte intravasale Gerinnung mit Thrombozytenverbrauch. Mögliche Ursachen der Thrombopenie sind in verschiedenen Studien untersucht worden. Neben Knochenmarkssuppression mit Thrombozytenbildungsstörung kommt das sogenannte *splenic pooling*, also die Ansammlung von Thrombozyten in der Milz, als Ursache in Betracht (Löscher et al., 2010). Möglicherweise spielen die Ansammlung von Thrombozyten im von *P. falciparum* geschädigten Gefäßsystem (Horstmann and Dietrich, 1985) und die Entwicklung einer Immunthrombopenie ebenfalls eine Rolle (Lacerda et al., 2011). Interessanterweise zeigt sich eine Thrombopenie in milderer Ausprägung am häufigsten bei teilimmunen Kindern in Endemiegebieten und in starker Ausprägung bei Patienten mit importierter *Malaria tropica*, also bei meist Nicht-Immunen (D'Acremont et al., 2002).

Die Aktivierung der Fibrinolyse und die nachfolgende Entwicklung einer Koagulopathie werden in dieser Arbeit reflektiert durch signifikant erhöhte Spiegel der D-Dimere und des Fibrinogens in der Patientengruppe. Ebenfalls messbar war eine signifikante Thrombozytopenie, die möglicherweise durch die Koagulopathie und zusätzlich durch eine gestörte Mikrozirkulation verschlimmert wurde. Während die Werte der D-Dimere und der Thrombozyten signifikant unterschiedlich waren bei Patienten mit einer komplizierten *Malaria*, verglichen mit denen mit einer unkomplizierten *Malaria*, konnte dies für das Fibrinogen nicht bestätigt werden. Alle drei Biomarker haben aufgrund der niedrigen diskriminatorischen Aussagekraft keine prädiktive oder prognostische Bedeutung.

4.1.5 Hämolysemarker

Laktatdehydrogenase (LDH)

LDH ist ein Enzym, welches in praktisch allen Zellen des Körpers vorkommt. Eine Erhöhung ist daher relativ unspezifisch. Die LDH ist einer der Hämolyseparameter bei hämolytischer Anämie, so auch bei der *Malaria* (Fendel et al., 2010).

Wie auch alle anderen Marker war das LDH in der Patientengruppe signifikant erhöht. Aufgrund des in der weiteren Analyse dargestellten breiten 95%-Konfidenzintervalls ist auch hier eine unzureichende diskriminatorische Eigenschaft hinsichtlich der Unterscheidung zwischen komplizierter und unkomplizierter *Malaria tropica* dargelegt worden.

4.2 Diagnosekriterien für die komplizierte Malaria tropica

Die Modifikation der WHO-Kriterien für eine schwere Malaria tropica (WHO, 2000) erfolgte, weil die Kriterien anhand von Studien in Endemiegebieten festgesetzt wurden. Dort sind insbesondere Kinder von einer komplizierten Malaria betroffen, für die im Vergleich zu Erwachsenen teilweise andere Indikatoren für eine schwere Malaria gelten. Zum Beispiel ist eine schwere Anämie mit einem Hb von <6 g/l in Endemiegebieten häufig bei der ärztlichen Erstvorstellung zu finden. Aufgrund verschiedener Ursachen leiden dort viele Menschen bereits vor der Malariaerkrankung an einer Anämie, welche durch den Befall mit *P. falciparum* zusätzlich verschlimmert werden kann. Die Anämie ist in der Regel multifaktoriell bedingt, so zum Beispiel durch chronischen Parasitenbefall (Brooker et al., 2007). Eine schwere Anämie mit einem Hb <6 g/l ist in Industrienationen oftmals im Rahmen eines akuten Blutungsgeschehens vorzufinden. Deshalb wurde für diese Studie ein Hb <8 g/l als Grenzwert für eine schwere Anämie angegeben. Ähnliches gilt für die Hyperparasitämie, die in dieser Studie mit $\geq 5\%$ Parasiten/ μ l definiert war. In Endemiegebieten gilt aufgrund der Teilimmunität der Patienten eine deutlich höhere Parasitämie als Richtwert für eine komplizierte Malaria tropica. Für Nicht-Immune wird im Allgemeinen aufgrund des häufig schwereren Verlaufs jedoch die 5%-Grenze angegeben.

4.3 Reiseanamnese

Die in dieser Arbeit untersuchte Patientengruppe setzte sich aus Migranten aus Malariaendemiegebieten und nicht-immunen Reisenden zusammen. Es ist anzunehmen, dass sich die individuelle Immunität der Patientengruppe von Patienten unterscheidet, die in Endemiegebieten leben.

Nur 5,3% aller Malariapatienten gaben an, eine Malariaphylaxe eingenommen zu haben. Eine adäquate Chemoprophylaxe ist einerseits wichtig zur Prävention einer Malariaerkrankung, andererseits kann durch sie bei einer Infektion wenigstens ein komplizierter Verlauf verhindert werden (Bourgeade et al., 1990, Steffen, 1991). Daher empfiehlt die WHO seit Jahren für Reisende in Hochendemiegebiete eine entsprechende Prophylaxe, die bei richtiger Einnahme in der Regel eine gute vorbeugende Wirkung zeigt. Bei den hier verzeichneten vier Patienten, die trotz Malariaphylaxe mit *P. falciparum* infiziert wurden, ist anzunehmen, dass die Einnahme entweder nicht konsequent erfolgte oder eine beeinträchtigte Resorption der Medikamente z.B. durch eine Enteritis vorlag. Von den 79 Patienten haben 67 gar keine Prophylaxe eingenom-

men. Möglicherweise war ein Großteil der Patienten längerfristig auf Reisen und hat deshalb keine Prophylaxe eingenommen. Die Zahlen machen noch einmal deutlich, wie wichtig eine adäquate Malariaprophylaxe ist.

Aufgrund der Vielfalt der klinischen Symptomatik und der Unterschiede in der subjektiven Befindlichkeitsstörung stellten sich die hier untersuchten Patienten zu sehr unterschiedlichen Zeitpunkten erstmals ärztlich vor.

4.4 Limitationen

Die Ergebnisse dieser Arbeit sind teilweise nur begrenzt aussagekräftig. Zur besseren Untersuchung der heterogenen Pathophysiologie und prognostischen Güte wäre die Testung der Biomarker bezogen auf die verschiedenen Subgruppen einer komplizierten *Malaria tropica* nach WHO-Kriterien hilfreich. Die Fallzahl der hier untersuchten Malariapatienten ist mit 79 Patienten zu gering, um eine Einteilung in diese Subgruppen zuzulassen. Es ist möglich, dass die pathophysiologischen Prozesse bei Reisenden mit unterschiedlicher Herkunft verschieden sind. Die Ethnie der untersuchten Patienten war sehr heterogen und setzte sich aus Menschen mit Migrationshintergrund und Kaukasiern zusammen. Im Vergleich dazu waren alle Kontrollpersonen Kaukasier. Wir gehen jedoch davon aus, dass die Ergebnisse auch auf Gesunde mit anderem ethnischen Hintergrund anwendbar sind.

Ausblick

Diese Studie ist eine Pilotstudie mit den genannten Limitationen. Trotzdem tragen die in dieser Arbeit ermittelten Ergebnisse zum besseren Verständnis der heterogenen pathophysiologischen Abläufe bei importierter *Malaria tropica* bei Erwachsenen bei. Weiterführende Studien mit höheren Patientenzahlen sind jedoch nötig, um diese Ergebnisse zu stützen und weiterzuentwickeln.

5 Zusammenfassung

Die Ergebnisse dieser Arbeit reflektieren die heterogene Pathophysiologie der *Malaria tropica*. Um zu ermitteln, ob verschiedene Biomarker die Schwere der Krankheitsbilder abbilden und so eine Bedeutung hinsichtlich der Prognose und der Risikostratifizierung haben, wurde das Serum von 79 Erwachsenen mit importierter *Malaria tropica* untersucht. Hinsichtlich der diagnostischen Güte konnten für mehrere Biomarker gute bis sehr gute Ergebnisse erzielt werden. Copeptin, CRP, MPO, Elastase-2, Endothelin-1, sICAM-1, sVCAM-1, Fibrinogen, D-Dimere, LDH und die Thrombozytenzahl waren in der Patientengruppe signifikant verschieden und konnten somit gut zwischen gesunden Kontrollen und Malariakranken unterscheiden. Die Diagnose einer Malaria ist in Endemiegebieten aufgrund mangelnder Ressourcen oft schwierig und nicht durchführbar. In Industrienationen besteht dagegen aufgrund der relativ niedrigen Prävalenz unter diagnostizierenden Ärzten ohne tropenmedizinische Erfahrung eine große Unsicherheit bezüglich der Diagnosestellung, der Abschätzung der Schwere und der Prognose der Malariaerkrankung. Das kann dazu führen, dass die Diagnose erst spät gestellt wird und somit das Risiko der Mortalität ansteigt. Zur Verbesserung der Risikostratifizierung bei der ärztlichen Erstvorstellung eines Malariapatienten wären die hier getesteten Marker also hilfreich einzusetzen. Es ist darauf hinzuweisen, dass die Marker für die *Malaria tropica* nicht spezifisch sind, somit bleibt die diagnostische Mikroskopie der Goldstandard. Erhöhte Spiegel der Biomarker sollten den behandelnden Arzt jedoch alarmieren und die Malaria zur Liste der Differenzialdiagnosen hinzufügen. Die Folge sollte die Durchführung der diagnostischen Mikroskopie und gegebenenfalls die Überweisung an einen Tropenmediziner sein. Für keinen der hier untersuchten Marker konnte eine Assoziation zur Schwere der Erkrankung festgestellt werden. In Industrienationen werden einige der getesteten Biomarker bereits im Rahmen der Routine-Laboruntersuchungen bei Erstvorstellung eines Patienten mit fieberhaftem Infekt untersucht. Darunter sind unter anderem CRP, Fibrinogen, die Thrombozytenzahl und LDH. Es ist zu empfehlen, weitere der hier getesteten Marker aufgrund der guten diagnostischen Güte bei Malariapatienten zur Liste der Routine-Laborparameter hinzuzufügen. Sinnvoll wären hier zum Beispiel die Endothelmarker Elastase-2, sICAM-1, sVCAM-1 und MPO.

6 Literaturverzeichnis

- AMARATUNGA, C., LOPERA-MESA, T. M., BRITAIN, N. J., CHOLERA, R., ARIE, T., FUJIOKA, H., KEEFER, J. R., FAIRHURST, R. M. (2011) A role for fetal hemoglobin and maternal immune IgG in infant resistance to *Plasmodium falciparum* malaria. *PLoS One*, 6, e14798.
- ANZAI, T., YOSHIKAWA, T., SHIRAKI, H., ASAKURA, Y., AKAISHI, M., MITAMURA, H., OGAWA, S. (1997) C-reactive protein as a predictor of infarct expansion and cardiac rupture after a first Q-wave acute myocardial infarction. *Circulation*, 96, 778-84.
- BAYES-GENIS, A., CONOVER, C. A., OVERGAARD, M. T., BAILEY, K. R., CHRISTIANSEN, M., HOLMES, D. R., JR., VIRMANI, R., OXVIG, C., SCHWARTZ, R. S. (2001) Pregnancy-associated plasma protein A as a marker of acute coronary syndromes. *N Engl J Med*, 345, 1022-9.
- BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP. (2001) Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*, 69, 89-95.
- BOEHME, M. W., WERLE, E., KOMMERELL, B., RAETH, U. (1994) Serum levels of adhesion molecules and thrombomodulin as indicators of vascular injury in severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Clin Investig*, 72, 598-603.
- BORATO, D. C., PARABOCZ, G. C., RIBAS, S. R., KALVA-FILHO, C. A., BORBA, L. M., ITO, C. A., BAIL, L., DOS SANTOS, F. A., VELLOSA, J. C. (2012) Changes of metabolic and inflammatory markers in HIV infection: glucose, lipids, serum Hs-CRP and myeloperoxidase. *Metabolism*. Oct;61(10):1353-60
- BOURGEADE, A., FAUGERE, B., NOSNY, Y. (1990) [Prevention of malaria in travelers and expatriates]. *Med Trop (Mars)*, 50, 125-31.
- BRANDTS, C. H., MORDMULLER, B. G., LEHMAN, L. G., KREMSNER, P. G. (1997) [The dual role of tumor necrosis factor (TNF) during a malarial attack]. *Sante*, 7, 271-4.
- BROOKER, S., AKHWALE, W., PULLAN, R., ESTAMBALE, B., CLARKE, S. E., SNOW, R. W., HOTEZ, P. J. (2007) Epidemiology of plasmodium-helminth co-infection in Africa: populations at risk, potential impact on anemia, and prospects for combining control. *Am J Trop Med Hyg*, 77, 88-98.
- BROWN, A. E., WEBSTER, H. K., TEJA-ISAVADHARM, P., KEERATITHAKUL, D. (1990) Macrophage activation in *falciparum* malaria as measured by neopterin and interferon-gamma. *Clin Exp Immunol*, 82, 97-101.
- BRUNEEL, F., TUBACH, F., CORNE, P., MEGARBANE, B., MIRA, J. P., PEYTEL, E., CAMUS, C., SCHORTGEN, F., AZOULAY, E., COHEN, Y., GEORGES, H., MEYBECK, A., HYVERNAT, H., TROUILLET, J. L., FRENOY, E., NICOLET, L., ROY, C., DURAND, R., LE BRAS, J., WOLFF, M. (2010) Severe imported *falciparum* malaria: a cohort study in 400 critically ill adults. *PLoS One*, 5, e13236.

- BUFFET, P. A., SAFEUKUI, I., DEPLAINE, G., BROUSSE, V., PRENDKI, V., THELLIER, M., TURNER, G. D., MERCEREAU-PUIJALON, O. (2011) The pathogenesis of *Plasmodium falciparum* malaria in humans: insights from splenic physiology. *Blood*, 117, 381-92.
- CASALS-PASCUAL, C., KAI, O., CHEUNG, J. O., WILLIAMS, S., LOWE, B., NYANOTI, M., WILLIAMS, T. N., MAITLAND, K., MOLYNEUX, M., NEWTON, C. R., PESHU, N., WATT, S. M., ROBERTS, D. J. (2006) Suppression of erythropoiesis in malarial anemia is associated with hemozoin in vitro and in vivo. *Blood*, 108, 2569-77.
- CASTELLI, G. P., POGNANI, C., MEISNER, M., STUANI, A., BELLOMI, D., SGARBI, L. (2004) Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. *Crit Care*, 8, R234-42.
- CHECKLEY, A. M., SMITH, A., SMITH, V., BLAZE, M., BRADLEY, D., CHIODINI, P. L., WHITTY, C. J. (2012) Risk factors for mortality from imported falciparum malaria in the United Kingdom over 20 years: an observational study. *Bmj*, 344, e2116.
- CHENG, P. J., Huang, S. Y., Shaw, S. W., CHUEH, H. Y., HSIEH, T. T. (2010) Effect of maternal hepatitis B carrier status on first-trimester markers of Down syndrome. *Reprod. Sci*, 17, 564-7.
- CONROY, A. L., PHIRI, H., HAWKES, M., GLOVER, S., MALLEWA, M., SEYDEL, K. B., TAYLOR, T. E., MOLYNEUX, M. E., KAIN, K. C. (2010) Endothelium-based biomarkers are associated with cerebral malaria in Malawian children: a retrospective case-control study. *PLoS One*, 5, e15291.
- CONROY, A. L., GLOVER, S. J., HAWKES, M., ERDMAN, L. K., SEYDEL, K. B., TAYLOR, T. E., MOLYNEUX, M. E. & KAIN, K. C. (2012) Angiopoietin-2 levels are associated with retinopathy and predict mortality in Malawian children with cerebral malaria: a retrospective case-control study*. *Crit Care Med*, 40, 952-9.
- D'ACREMONT, V., LANDRY, P., MUELLER, I., PECOUD, A., GENTON, B. (2002) 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*, 66, 481-6.
- DAO, Q., KRISHNASWAMY, P., KAZANEGRA, R., HARRISON, A., AMIRNOVIN, R., LENERT, L., CLOPTON, P., ALBERTO, J., HLAVIN, P., MAISEL, A. S. (2001) Utility of B-type natriuretic peptide in the diagnosis of congestive heart failure in an urgent-care setting. *J Am Coll Cardiol*, 37, 379-85.
- DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR TROPENMEDIZIN UND INTERNATIONALE GESUNDHEIT E.V. (DTG). Diagnostik und Therapie der Malaria. [<http://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/042-001.html>]; 2011.
- DIETMANN, A., LACKNER, P., HELBOK, R., SPORA, K., ISSIFOU, S., LELL, B., REINDL, M., KREMSNER, P. G., SCHMUTZHARD, E. (2008) Opposed circulating plasma levels of endothelin-1 and C-type natriuretic peptide in children with *Plasmodium falciparum* malaria. *Malar J*, 7, 253.

- DOLLERY, C. M., OWEN, C. A., SUKHOVA, G. K., KRETTEK, A., SHAPIRO, S. D., LIBBY, P. (2003) Neutrophil elastase in human atherosclerotic plaques: production by macrophages. *Circulation*, 107, 2829-36.
- DONDORP, A. M., DESAKORN, V., PONGTAVORNPIYO, W., SAHASSANANDA, D., SILAMUT, K., CHOTIVANICH, K., NEWTON, P. N., PITISUTTITHUM, P., SMITHYMAN, A. M., WHITE, N. J., DAY, N. P. (2005) Estimation of the total parasite biomass in acute falciparum malaria from plasma PfHRP2. *PLoS Med*, 2, e204.
- ECDC (2011) Annual epidemiological report 2011, reporting on 2009 surveillance data and 2010 epidemic intelligence data. 4 (125-8).
- EHRHARDT, S., MOCKENHAUPT, F. P., ANEMANA, S. D., OTCHWEMAH, R. N., WICHMANN, D., CRAMER, J. P., BIENZLE, U., BURCHARD, G. D., BRATTIG, N. W. (2005) High levels of circulating cardiac proteins indicate cardiac impairment in African children with severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Microbes Infect*, 7, 1204-10.
- EHRHARDT, S., WICHMANN, D., HEMMER, C. J., BURCHARD, G. D., BRATTIG, N. W. (2004) Circulating concentrations of cardiac proteins in complicated and uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Trop Med Int Health*, 9, 1099-103.
- ERDMAN, L. K., DHABANGI, A., MUSOKE, C., CONROY, A. L., HAWKES, M., HIGGINS, S., RAJWANS, N., WOLOFSKY, K. T., STREINER, D. L., LILES, W. C., CSERTI-GAZDEWICH, C. M., KAIN, K. C. (2011) Combinations of host biomarkers predict mortality among Ugandan children with severe malaria: a retrospective case-control study. *PLoS One*, 6, e17440.
- ETTER, C., STRAUB, Y., HERSBERGER, M., RAZ, H. R., KISTLER, T., KISS, D., WUTHRICH, R. P., GLOOR, H. J., AERNE, D., WAHL, P., KLAGHOFER, R., AMBUHL, P. M. (2010) Pregnancy-associated plasma protein-A is an independent short-time predictor of mortality in patients on maintenance haemodialysis. *Eur Heart J*, 31, 354-9.
- FENDEL, R., BRANDTS, C., RUDAT, A., KREIDENWEISS, A., STEUR, C., APPELMANN, I., RUEHE, B., SCHRODER, P., BERDEL, W. E., KREMSNER, P. G., MORDMULLER, B. (2010) Hemolysis is associated with low reticulocyte production index and predicts blood transfusion in severe malarial anemia. *PLoS One*, 5, e10038.
- FRANCISCETTI, I. M. (2008) Does activation of the blood coagulation cascade have a role in malaria pathogenesis? *Trends Parasitol*, 24, 258-63.
- FRANCISCETTI, I. M., SEYDEL, K. B., MONTEIRO, R. Q. (2008) Blood coagulation, inflammation, and malaria. *Microcirculation*, 15, 81-107.
- FUNAYAMA, A., SHISHIDO, T., NETSU, S., ISHINO, M., SASAKI, T., KATOH, S., TAKAHASHI, H., ARIMOTO, T., MIYAMOTO, T., NITOBE, J., WATANABE, T., KUBOTA, I. (2011) Serum pregnancy-associated plasma protein a in patients with heart failure. *J Card Fail*, 17, 819-26.

- GANDO, S., HAYAKAWA, M., SAWAMURA, A., HOSHINO, H., OSHIRO, A., KUBOTA, N., JESMIN, S. (2007) The activation of neutrophil elastase-mediated fibrinolysis is not sufficient to overcome the fibrinolytic shutdown of disseminated intravascular coagulation associated with systemic inflammation. *Thromb Res*, 121, 67-73.
- GILL, G., BEECHING, N. (2009) Malaria. In: *Lecture Notes Tropical Medicine*. Wiley-Blackwell, Chichester, Hoboken, 55-72.
- GUIGNANT, C., VENET, F., VOIRIN, N., POITEVIN, F., MALCUS, C., BOHE, J., LEPAPE, A., MONNERET, G. (2010) Proatrial natriuretic peptide is a better predictor of 28-day mortality in septic shock patients than proendothelin-1. *Clin Chem Lab Med*, 48, 1813-20.
- GUINARD-BARBIER, S., CHENEVIER-GOBEAUX, C., GRABAR, S., QUINQUIS, L., SCHMIDT, J., HAUSFATER, P., CASALINO, E., HUET, S., POURRIAT, J. L., RENAUD, B., CLAESSENS, Y. E. (2011) Bacteremia and MR-proANP changes in mild community-acquired pneumonia. *Biomarkers*, 16, 637-41.
- HANSON, J., LAM, S. W., MAHANTA, K. C., PATTNAIK, R., ALAM, S., MOHANTY, S., HASAN, M. U., HOSSAIN, A., CHARUNWATTHANA, P., CHOTIVANICH, K., MAUDE, R. J., KINGSTON, H., DAY, N. P., MISHRA, S., WHITE, N. J., DONDORP, A. M. (2012) Relative contributions of macrovascular and microvascular dysfunction to disease severity in falciparum malaria. *J Infect Dis*, 206, 571-9.
- HAYAKAWA, M., SAWAMURA, A., GANDO, S., KUBOTA, N., UEGAKI, S., SHIMOJIMA, H., SUGANO, M., IEKO, M. (2011) Disseminated intravascular coagulation at an early phase of trauma is associated with consumption coagulopathy and excessive fibrinolysis both by plasmin and neutrophil elastase. *Surgery*, 149, 221-30.
- HAZELZET, J. A., HACK, C. E., DE GROOT, R. (2001) Coagulation studies. *Methods Mol Med*, 67, 513-27.
- HEMMER, C. J., HOLST, F. G., KERN, P., CHIWAKATA, C. B., DIETRICH, M., REISINGER, E. C. (2006) Stronger host response per parasitized erythrocyte in *Plasmodium vivax* or *ovale* than in *Plasmodium falciparum* malaria. *Trop Med Int Health*, 11, 817-23.
- HERR, J., MEHRFAR, P., SCHMIEDEL, S., WICHMANN, D., BRATTIG, N. W., BURCHARD, G. D., CRAMER, J. P. (2011) Reduced cardiac output in imported *Plasmodium falciparum* malaria. *Malar J*, 10, 160.
- HO, M., WHITE, N. J. (1999) Molecular mechanisms of cytoadherence in malaria. *Am J Physiol*, 276, C1231-42.
- HORSTMANN, R. D., DIETRICH, M. (1985) Haemostatic alterations in malaria correlate to parasitaemia. *Blut*, 51, 329-35.
- JANOFF, A., ROTH, W. J., SINHA, S., BARNWELL, J. W. (1988) Degradation of plasmodial antigens by human neutrophil elastase. *J Immunol*, 141, 1332-40.

- JENSENIUS, M., HAN, P. V., SCHLAGENHAUF, P., SCHWARTZ, E., PAROLA, P., CASTELLI, F., VON SONNENBURG, F., LOUTAN, L., LEDER, K., FREEDMANN, D. O.; GEOSENTINEL SURVEILLANCE NETWORK (2013) Acute and potential life-threatening tropical diseases in western travellers--a GeoSentinel multicenter study, 1996-2011. *Am J Trop Med Hyg*, 88, 397-404.
- KARAHOCAGIL, M. K., ASLAN, M., CEYLAN, M. R., CIKMAN, A., SUNNETCIOGLU, M., KUCUKOGLU, M. E., TASKIN, A. (2012) Serum myeloperoxidase activity and oxidative stress in patients with acute brucellosis. *Clin Biochem*, 45, 733-6.
- KASSA, F. A., SHIO, M. T., BELLEMARE, M. J., FAYE, B., NDAO, M., OLIVIER, M. (2011) New inflammation-related biomarkers during malaria infection. *PLoS One*, 6, e26495.
- KEDZIERSKI, R. M., YANAGISAWA, M. (2001) Endothelin system: the double-edged sword in health and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 41, 851-76.
- KHAN, S. Q., DHILLON, O. S., O'BRIEN, R. J., STRUCK, J., QUINN, P. A., MORGENTHALER, N. G., SQUIRE, I. B., DAVIES, J. E., BERGMANN, A., NG, L. L. (2007) C-terminal provasopressin (copeptin) as a novel and prognostic marker in acute myocardial infarction: Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide (LAMP) study. *Circulation*, 115, 2103-10.
- KLINKE, A., NUSSBAUM, C., KUBALA, L., FRIEDRICHS, K., RUDOLPH, T. K., RUDOLPH, V., PAUST, H. J., SCHRODER, C., BENTEN, D., LAU, D., SZOCS, K., FURTMULLER, P. G., HEERINGA, P., SYDOW, K., DUCHSTEIN, H. J., EHMKE, H., SCHUMACHER, U., MEINERTZ, T., SPERANDIO, M., BALDUS, S. (2011) Myeloperoxidase attracts neutrophils by physical forces. *Blood*, 117, 1350-8.
- KOTHARI, N., KESHARI, R. S., BOGRA, J., KOHLI, M., ABBAS, H., MALIK, A., DIKSHIT, M., BARTHWAL, M. K. (2011) Increased myeloperoxidase enzyme activity in plasma is an indicator of inflammation and onset of sepsis. *J Crit Care*, 26, 435 e1-7.
- KREMSNER, P. G., WINKLER, S., BRANDTS, C., WILDLING, E., JENNE, L., GRÄNINGER, W., PRADA, J., BIENZLE, U., JUILLARD, P., GRAU, G. E. (1995) Prediction of accelerated cure in *Plasmodium falciparum* malaria by the elevated capacity of tumor necrosis factor production. *Am J Trop Med Hyg*, 53, 532-8.
- LACERDA, M. V., MOURAO, M. P., COELHO, H. C., SANTOS, J. B. (2011) Thrombocytopenia in malaria: who cares? *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 106 Suppl 1, 52-63.
- LIMPER, M., GOEIJENBIER, M., WAGENAAR, J. F., GASEM, M. H., ISBANDRIO, B., KUNDE, J., HARTMANN, O., DUITTS, A. J., VAN GORP, E. C. (2010) Copeptin as a predictor of disease severity and survival in leptospirosis. *J Infect*, 61, 92-4.
- LÖSCHER T., HORSTMANN R., KRÜGER A., BURCHARD G.-D. (2010). Malaria. In: *Tropenmedizin in Klinik und Praxis*. 4. Aufl., LÖSCHER T., BURCHARD G.-D. (Hrg.) Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 554-594.
- LUSE, S. A., MILLER, L. H. (1971) *Plasmodium falciparum* malaria. Ultrastructure of parasitized erythrocytes in cardiac vessels. *Am J Trop Med Hyg*, 20, 655-60.

- LYKE, K. E., BURGESS, R., CISSOKO, Y., SANGARE, L., DAO, M., DIARRA, I., KONE, A., HARLEY, R., PLOWE, C. V., DOUMBO, O. K., SZTEIN, M. B. (2004) 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*, 72, 5630-7.
- MARKS, M. E., ARMSTRONG, M., SUVARI, M. M., BATSON, S., WHITTY, J. M., CHIODINI, P. L., BELLINGHAN, G., DOHERTY, J. F. (2013) Severe imported *falciparum* malaria among adults requiring intensive care: a retrospective study at the hospital for tropical diseases, London. *BMC Infect Dis*, 13, 118.
- MARUYAMA, Y., LINDHOLM, B., STENVINKEL, P. (2004) Inflammation and oxidative stress in ESRD--the role of myeloperoxidase. *J Nephrol*, 17 Suppl 8, S72-6.
- MERKEL, W. C. (1946) *Plasmodium falciparum* malaria; the coronary and myocardial lesions observed at autopsy in two cases of acute fulminating *P. falciparum* infection. *Arch Pathol (Chic)*, 41, 290-8.
- MOHAMMED, A. O., ELGHAZALI, G., MOHAMMED, H. B., ELBASHIR, M. I., XU, S., BERZINS, K., VENGE, P. (2003) Human neutrophil lipocalin: a specific marker for neutrophil activation in severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Acta Trop*, 87, 279-85.
- MORGENTHALER, N. G. (2010) Copeptin: a biomarker of cardiovascular and renal function. *Congest Heart Fail*, 16 Suppl 1, S37-44.
- NICKEL, C. H., BINGISSER, R., MORGENHALER, N. G. (2012) The role of copeptin as a diagnostic and prognostic biomarker for risk stratification in the emergency department. *BMC Med*, 10, 7.
- NIELSEN, L. S., SVANEGAARD, J., KLITGAARD, N. A., EGEBLAD, H. (2004) N-terminal pro-brain natriuretic peptide for discriminating between cardiac and non-cardiac dyspnoea. *Eur J Heart Fail*, 6, 63-70.
- OCHOLA, L. B., SIDDONDO, B. R., OCHOLLA, H., NKYA, S., KIMANI, E. N., WILLIAMS, T. N., MAKALE, J. O., LILJANDER, A., URBAN, B. C., BULL, P. C., SZESTAK, T., MARSH, K., CRAIG, A. G. (2011) Specific receptor usage in *Plasmodium falciparum* cytoadherence is associated with disease outcome. *PLoS One*, 6, e14741.
- ODOLINI, S., PAROLA, P., GKRIANIA-KLOTSAS, E., CAUMES, E., SCHLAGENHAUF, P., LOPEZ-VELEZ, R., BURCHARD, G. D., SANTOS-O'CONNOR, F., WELD, L., VON SONNENBURG, F., FIELD, V., DE VRIES, P., JENSENIUS, M., LOU-TAN, L., CASTELLI, F. (2011) Travel-related imported infections in Europe, EuroTravNet 2009. *Clin Microbiol Infect*, 7. May;18(5):468-74
- PASTERNAK, N. D., DZIKOWSKI, R. (2009) PfEMP1: an antigen that plays a key role in the pathogenicity and immune evasion of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Int J Biochem Cell Biol*, 41, 1463-6.

- PEYRON, F., BURDIN, N., RINGWALD, P., VUILLEZ, J. P., ROUSSET, F., BANCHE-REAU, J. (1994) High levels of circulating IL-10 in human malaria. *Clin Exp Immunol*, 95, 300-3.
- PIGOTT, R., DILLON, L. P., HEMINGWAY, I. H., GEARING, A. J. (1992) Soluble forms of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 are present in the supernatants of cytokine activated cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 187, 584-9.
- POBER, J. S., SESSA, W. C. (2007) Evolving functions of endothelial cells in inflammation. *Nat Rev Immunol*, 7, 803-15.
- PONSFORD, M. J., MEDANA, I. M., PRAPANSILP, P., HIEN, T. T., LEE, S. J., DONDORP, A. M., ESIRI, M. M., DAY, N. P., WHITE, N. J., TURNER, G. D. (2012) Sequestration and microvascular congestion are associated with coma in human cerebral malaria. *J Infect Dis*, 205, 663-71.
- PUKRITTAYAKAMEE, S., CLEMENS, R., PRAMOOLSINSAP, C., KARGES, H. E., VANIJANONTA, S., BUNNAG, D., WHITE, N. J. (1992) Polymorphonuclear leucocyte elastase in *Plasmodium falciparum* malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 86, 598-601.
- ROBERT-KOCH-INSTITUT (2010) Zur Situation bei wichtigen Infektionskrankheiten in Deutschland, Reiseassoziierte Infektionskrankheiten 2009. *Epidemiologisches Bulletin*, 38, 379-383.
- ROBERT-KOCH-INSTITUT (2012) <http://www3.rki.de/SurvStat>, Datenstand: 29.03.2012. Robert Koch Institut.
- ROBERTS, D. J., CASALS-PASCUAL, C., WEATHERALL, D. J. (2005) The clinical and pathophysiological features of malarial anaemia. *Curr Top Microbiol Immunol*, 295, 137-67.
- ROBINSON, L. J., D'OMBRAIN, M. C., STANISIC, D. I., TARAICA, J., BERNARD, N., RICHARDS, J. S., BEESON, J. G., TAVUL, L., MICHON, P., MUELLER, I., SCHOFIELD, L. (2009) Cellular tumor necrosis factor, gamma interferon, and interleukin-6 responses as correlates of immunity and risk of clinical *Plasmodium falciparum* malaria in children from Papua New Guinea. *Infect Immun*, 77, 3033-43.
- ROZE, E., THIEBAUT, M. M., MAZEVET, D., BRICAIRE, F., DANIS, M., DESEIL-LIGNY, C. P., CAUMES, E. (2001) Neurologic sequelae after severe *falciparum* malaria in adult travelers. *Eur Neurol*, 46, 192-7.
- SANTOS, L. C., ABREU, C. F., XERINDA, S. M., TAVARES, M., LUCAS, R., SARMENTO, A. C. (2012) Severe imported malaria in an intensive care unit: a review of 59 cases. *Malar J*, 11, 96.
- SAVVIDOU, M. D., SAMUEL, I., SYNGELAKI, A., POULTON, M., NICOLAIDES, K. H. (2010) First-trimester markers of aneuploidy in women positive for HIV. *Bjog*, 118, 844-8.

- SCHAUB, N., REICHLIN, T., MEUNE, C., TWERENBOLD, R., HAAF, P., HOCHHOLZER, W., NIEDERHAUSER, N., BOSSHARD, P., STELZIG, C., FREESE, M., REITER, M., GEA, J., BUSER, A., MEBAZAA, A., OSSWALD, S., MUELLER, C. (2012) Markers of plaque instability in the early diagnosis and risk stratification of acute myocardial infarction. *Clin Chem*, 58, 246-56.
- SHIO, M. T., KASSA, F. A., BELLEMARE, M. J., OLIVIER, M. (2010) Innate inflammatory response to the malarial pigment hemozoin. *Microbes Infect*, 12, 889-99.
- SILBERNAGL S., DESPOPOULOS A. (1991) Taschenatlas der Physiologie. 4. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York. 140.
- SMITH, J. D., CHITNIS, C. E., CRAIG, A. G., ROBERTS, D. J., HUDSON-TAYLOR, D. E., PETERSON, D. S., PINCHES, R., NEWBOLD, C. I., MILLER, L. H. (1995) Switches in expression of Plasmodium falciparum var genes correlate with changes in antigenic and cytoadherent phenotypes of infected erythrocytes. *Cell*, 82, 101-10.
- STANKOVIC, S., ASANIN, M., MAJKIC-SINGH, N., IGNJATOVIC, S., MIHAILOVIC, M., NIKOLAJEVIC, I., MRDOVIC, I., MATIC, D., SAVIC, L., MARINKOVIC, J., OSTOJIC, M., VASILJEVIC, Z. (2012) The usefulness of myeloperoxidase in prediction of in-hospital mortality in patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated by primary percutaneous coronary intervention. *Clin Lab*, 58, 125-31.
- STEFFEN, R. (1991) Travel medicine--prevention based on epidemiological data. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 85, 156-62.
- STRUCK, J., MORGENTHALER, N. G., BERGMANN, A. (2005) Copeptin, a stable peptide derived from the vasopressin precursor, is elevated in serum of sepsis patients. *Peptides*, 26, 2500-4.
- SULEIMAN, M., KHATIB, R., AGMON, Y., MAHAMID, R., BOULOS, M., KAPELOVICH, M., LEVY, Y., BEYAR, R., MARKIEWICZ, W., HAMMERMAN, H., ARONSON, D. (2006) Early inflammation and risk of long-term development of heart failure and mortality in survivors of acute myocardial infarction predictive role of C-reactive protein. *J Am Coll Cardiol*, 47, 962-8.
- TCHINDA, V. H., TADEM, A. D., TAKO, E. A., TENE, G., FOGAKO, J., NYONGLEMA, P., SAMA, G., ZHOU, A., LEKE, R. G. (2007) Severe malaria in Cameroonian children: correlation between plasma levels of three soluble inducible adhesion molecules and TNF-alpha. *Acta Trop*, 102, 20-8.
- TOH, C. H., HOOTS, W. K. (2007) The scoring system of the Scientific and Standardisation Committee on Disseminated Intravascular Coagulation of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: a 5-year overview. *J Thromb Haemost*, 5, 604-6.
- TONSTAD, S., COWAN, J. L. (2009) C-reactive protein as a predictor of disease in smokers and former smokers: a review. *Int J Clin Pract*, 63, 1634-41.

- TURNER, G. D., LY, V. C., NGUYEN, T. H., TRAN, T. H., NGUYEN, H. P., BETHELL, D., WYLLIE, S., LOUWRIER, K., FOX, S. B., GATTER, K. C., DAY, N. P., TRAN, T. H., WHITE, N. J., BERENDT, A. R. (1998) Systemic endothelial activation occurs in both mild and severe malaria. Correlating dermal microvascular endothelial cell phenotype and soluble cell adhesion molecules with disease severity. *Am J Pathol*, 152, 1477-87.
- TURNER, G. D., MORRISON, H., JONES, M., DAVIS, T. M., LOOAREESUWAN, S., BULEY, I. D., GATTER, K. C., NEWBOLD, C. I., PUKRITAYAKAMEE, S., NAGACHINTA, B., ET AL. (1994) An immunohistochemical study of the pathology of fatal malaria. Evidence for widespread endothelial activation and a potential role for intercellular adhesion molecule-1 in cerebral sequestration. *Am J Pathol*, 145, 1057-69.
- URQUHART, A. D. (1994) Putative pathophysiological interactions of cytokines and phagocytic cells in severe human falciparum malaria. *Clin Infect Dis*, 19, 117-31.
- UUSITALO-SEPPALA, R., KOSKINEN, P., LEINO, A., PEURAVUORI, H., VAHLBERG, T., RINTALA, E. M. (2011) Early detection of severe sepsis in the emergency room: diagnostic value of plasma C-reactive protein, procalcitonin, and interleukin-6. *Scand J Infect Dis*, 43, 883-90.
- VAN WOLFSWINKEL, M. E., HESSELINK, D. A., HOORN, E. J., DE RIJKE, Y. B., KOELEWIJN, R., VAN HELLEMOND, J. J., VAN GENDEREN, P. J. (2012) Copeptin does not accurately predict disease severity in imported malaria. *Malar J*, 11, 6.
- VOGETSEDER, A., OSPELT, C., REINDL, M., SCHOBER, M., SCHMUTZHARD, E. (2004) Time course of coagulation parameters, cytokines and adhesion molecules in *Plasmodium falciparum* malaria. *Trop Med Int Health*, 9, 767-73.
- VON HAEHLING, S., JANKOWSKA, E. A., MORGENTHALER, N. G., VASSANELLI, C., ZANOLLA, L., ROZENTRYT, P., FILIPPATOS, G. S., DOEHNER, W., KOEHLER, F., PAPASSOTIRIOU, J., KREMASTINOS, D. T., BANASIAK, W., STRUCK, J., PONIKOWSKI, P., BERGMANN, A., ANKER, S. D. (2007) Comparison of midregional pro-atrial natriuretic peptide with N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in predicting survival in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 50, 1973-80.
- VON HAEHLING, S., PAPASSOTIRIOU, J., MORGENTHALER, N. G., HARTMANN, O., DOEHNER, W., STELLOS, K., WURSTER, T., SCHUSTER, A., NAGEL, E., GAWAZ, M., BIGALKE, B. (2012) Copeptin as a prognostic factor for major adverse cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol*, 162, 27-32.
- WANECEK, M., WEITZBERG, E., RUDEHILL, A., OLDNER, A. (2000) The endothelin system in septic and endotoxin shock. *Eur J Pharmacol*, 407, 1-15.
- WENISCH, C., WENISCH, H., WILAIRATANA, P., LOOAREESUWAN, S., VANNA-PHAN, S., WAGNER, O., GRANINGER, W., SCHONTHAL, E., RUMPOLD, H. (1996) Big endothelin in patients with complicated *Plasmodium falciparum* malaria. *J Infect Dis*, 173, 1281-4.

-
- WHITE, N. J. (2008) Plasmodium knowlesi: the fifth human malaria parasite. Clin Infect Dis, 46, 172-3.
- WHITE N. J. (2009) Malaria. In : Manson's Tropical Diseases. 22. Aufl., COOK G. C., ZUMLA A. I. (Hrg.) Saunders, Großbritannien, 1201-1300.
- WHO (2000) WHO: Severe falciparum malaria. Trans R Soc Trop Med Hyg 2000, 94(Suppl. 1):1-18.
- WHO (2010) Guidelines For The Treatment Of Malaria, WHO Press. Geneva, Switzerland, (7-8), 13-53
- WHO (2011a) International travel and health 2011. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2011: 144-167.
- WHO (2011b) WHO, World Malaria Report 2011. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2011: 1.
- WHO REGIONAL OFFICE FOR EUROPE, Copenhagen, Denmark (2006) From malaria control to elimination in the WHO European region 2006-2015, 7.
- WICHMANN, D., SCHWARZ, R. T., RUPPERT, V., EHRHARDT, S., CRAMER, J. P., BURCHARD, G. D., MAISCH, B., DEBIERRE-GROCKIEGO, F. (2007) Plasmodium falciparum glycosylphosphatidylinositol induces limited apoptosis in liver and spleen mouse tissue. Apoptosis, 12, 1037-41.
- WITTNER, M., CHRIST, G. J., HUANG, H., WEISS, L. M., HATCHER, V. B., MORRIS, S. A., ORR, G. A., BERMAN, J. W., ZEBALLOS, G. A., DOUGLAS, S. A., ET AL. (1995) Trypanosoma cruzi induces endothelin release from endothelial cells. J Infect Dis, 171, 493-7.

7 Tabellenverzeichnis

	<u>Seite</u>
Tab. 1: Kriterien der komplizierten Malaria tropica, modifiziert nach DTG (DTG, 2011) und WHO (WHO, 2000, WHO, 2010).....	8
Tab. 2: Ein- und Ausschlusskriterien der Patientengruppe.....	13
Tab. 3: Gründe für den Ausschluss aus der Studie (Screening Failures).	17
Tab. 4: Demografische Daten aller Studienteilnehmer	19
Tab. 5: Vitalzeichen aller Studienteilnehmer	20
Tab. 6: Ausgewählte pathologische Laborwerte aller Studienteilnehmer, gemessen innerhalb von 24h nach Erstvorstellung.....	21
Tab. 7: Biomarker in Patienten mit komplizierter und unkomplizierter Malaria tropica, gemessen innerhalb von 24 Stunden nach Erstvorstellung	23
Tab. 8: Inflammatorische und Endothelmarker in allen Malariapatienten und der Kontrollgruppe, gemessen innerhalb von 24 Stunden nach Erstvorstellung.....	51
Tab. 9: Marker einer kardialen Dysfunktion, einer Koagulopathie und Hämolysemarker in allen Malariapatienten und der Kontrollgruppe, gemessen innerhalb von 24 Stunden nach Erstvorstellung.....	52

8 Abbildungsverzeichnis

	<u>Seite</u>
Abb. 1: Ethnie der eingeschlossenen Patienten.....	18
Abb. 2: Gemessene Konzentrationen der inflammatorischen, der Endothel- und der kardialen Marker sowie der Marker einer Koagulopathie und der Hämolyse in allen Malariapatienten unkomplizierter und komplizierter Malaria tropica und in der Kontrollgruppe	53
Abb. 3: ROC-Analysen, Darstellung der diagnostischen Güte der Marker einer Inflammation (a), einer Endothelaktivierung (b), einer Koagulopathie (c), einer kardialen Dysfunktion (d) und einer Hämolyse (e).....	56

9 Abkürzungsverzeichnis

AUROC.....	<u>a</u> rea <u>u</u> nder the <u>r</u> eceiver <u>o</u> perating <u>c</u> haracteristic-curve = Fläche unter der receiver operating characteristic-Kurve
BNI	Bernhard-Nocht-Institut
BNP	Brain natriuretic peptide
BP.....	<u>b</u> lood <u>p</u> ressure = Blutdruck
°C	Grad Celsius
CM.....	<u>c</u> omplicated <u>m</u> alaria = komplizierte Malaria
CRP	C-Reaktives Protein
DTG.....	Deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin und Internati- onale Gesundheit e.V.
GMPD	<u>g</u> eometric <u>m</u> ean <u>p</u> arasite <u>d</u> ensity = mittlere Parasiten- dichte
ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
Hb.....	Hämoglobin
sICAM-1.....	soluble Intercellular Adhesion Molecule-1
IL	Interleukin
INF.....	Interferon
l	Liter
LDH	Laktatdehydrogenase
mg	Milligramm
mmol.....	Millimol
min.....	Minute
mmHg.....	Millimeter Quecksilbersäule
MPO	Myeloperoxidase
MR-proANP	midregional pro-atrial natriuretic peptide
N/A	not applicable
ng	Nanogramm
n	number = Anzahl
NT-proBNP	N-terminal pro-brain natriuretic peptide
P	Plasmodium
PAPP-A	pregnancy-associated plasma-protein-A
pg	Pikogramm
PfEMP 1	Plasmodium-falciparum-infected erythrocyte membrane protein 1

p-Wert.....	Signifikanzwert
RKI	Robert-Koch-Institut
ROC-Kurve.....	<u>r</u> ec <u>e</u> i <u>v</u> e <u>r</u> <u>o</u> perating <u>c</u> haracteristic-Kurve = Grenzwertoptimierungskurve
SD	<u>s</u> tandard <u>d</u> eviation = Standardabweichung
TNF	Tumornekrosefaktor
U.....	Unit
UM.....	<u>u</u> ncomplicated <u>m</u> alaria = unkomplizierte Malaria
WHO.....	<u>W</u> orld <u>H</u> ealth <u>O</u> rganisation = Weltgesundheitsorganisation
%.....	Prozent
<	kleiner
>	größer

10 Anhang

Untersuchte Laborparameter

ALT (U/l)

AST (U/l)

Bilirubin gesamt (mg/dl)

Copeptin (pmol/l)

CRP (mg/l)

D-Dimere (mg/l)

Elastase-2 (ng/ml)

Fibrinogen (g/l)

Hb (g/dl)

Kreatinin (mg/dl)

LDH (U/l)

Leukozyten (mrd/ml)

MPO (pmol/l)

NT-proBNP (pg/ml)

Parasitenlast (Parasitenzahl/ μ l)

sICAM-1 (ng/ml)

sVCAM-1 (ng/ml)

Thrombozyten (mrd/ml)

Tab. 8: Inflammatorische und Endothelmarker in allen Malariapatienten und der Kontrollgruppe, gemessen innerhalb von 24 Stunden nach Erstvorstellung

	Fall / Kontrolle	Anzahl (n)	Median	AUROC	95% CI		Sensitivität	Spezifität	Youden-Index	Cutpoint	PPV (%)**	NPV (%)***	p-Wert*
MARKER EINER INFLAMMATION													
PAPP-A (IU/l)	Fall	79	6,0	0,494	0,386	0,602	0,09	1,00	0,09	11,0	100,0	36,3	0,912
	Kontrolle	41	6,3										
Copeptin (pmol/l)	Fall	79	8,9	0,812	0,735	0,888	0,76	0,78	0,53	5,7	87,0	62,0	< 0,001
	Kontrolle	40	4,5										
CRP (mg/l)	Fall	79	90,0	1,000	1,000	1,000	1,00	1,00	1,00	10,8	100,0	100,0	< 0,001
	Kontrolle	39	5,0										
MARKER EINER ENDOTHELIALEN DYSFUNKTION													
MPO (pmol/l)	Fall	79	3110,4	0,989	0,975	1000	0,09	1,00	0,09	8938,8	100,0	36,3	< 0,001
	Kontrolle	41	527,0										
Elastase-2 (ng/ml)	Fall	79	2959,0	0,979	0,956	1000	0,95	0,90	0,85	747,5	94,9	90,2	< 0,001
	Kontrolle	41	207,0										
Endothelin-1 (fmol/ml)	Fall	79	1,2	0,741	0,651	0,832	0,47	0,90	0,37	1,4	88,1	46,2	< 0,001
	Kontrolle	41	0,6										
sICAM-1 (ng/ml)	Fall	79	142,3	0,977	0,955	0,999	0,92	1,00	0,92	56,2	100,0	84,6	< 0,001
	Kontrolle	41	17,1										
sVCAM-1 (ng/ml)	Fall	79	1120,0	0,911	0,858	0,964	0,77	0,93	0,70	667,5	95,3	67,9	< 0,001
	Kontrolle	41	420,0										
	Kontrolle	39	152,0										

95% CI = 95% Konfidenzintervall für AUROC; *p-Wert für AUROC; **PPV: positiv prädiktiver Wert; ***NPV: negativ prädiktiver Wert

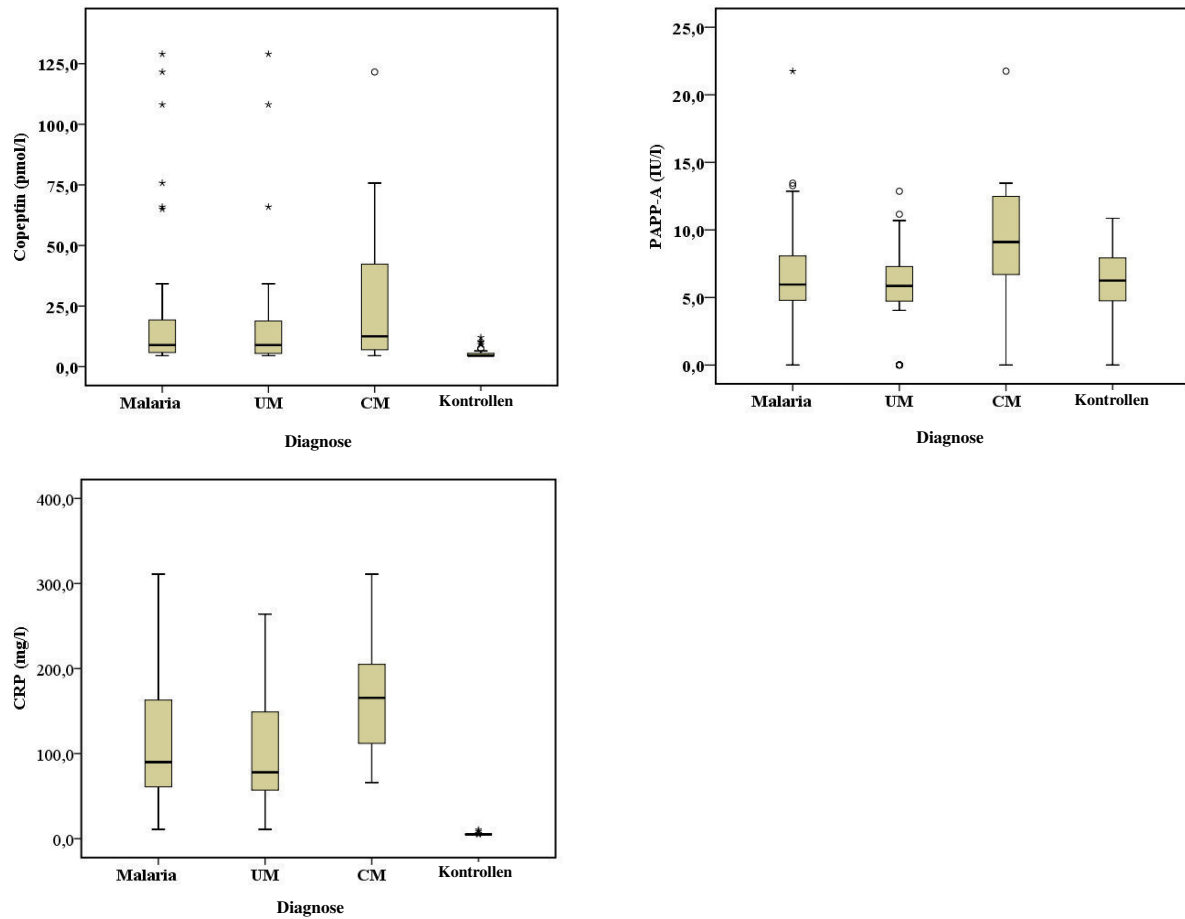
Tab. 9: Marker einer kardialen Dysfunktion, einer Koagulopathie und Hämolysemarker in allen Malariapatienten und der Kontrollgruppe, gemessen innerhalb von 24 Stunden nach Erstvorstellung

	Fall / Kontrolle	Anzahl (n)	Median	AUROC	95% CI		Sensitivität	Spezifität	Youden-Index	Cutpoint	PPV (%)**	NPV (%)***	p-Wert*
MARKER EINER KARDIALEN DYSFUNKTION													
NT-proBNP (pg/ml)	Fall	79	61,9	0,695	0,602	0,789	0,43	0,93	0,36	86,2	91,9	45,8	< 0,001
	Kontrolle	41	35,6										
MR-proANP (pmol/l)	Fall	79	44,3	0,721	0,632	0,810	0,48	0,93	0,41	46,1	92,7	47,4	< 0,001
	Kontrolle	40	28,3										
MARKER EINER KOAGULOPATHIE													
Fibrinogen (g/l)	Fall	71	5,0	0,910	0,852	0,924	0,92	0,85	0,76	3,2	90,3	84,2	< 0,001
	Kontrolle	39	2,7										
D-Dimere (mg/l)	Fall	58	3,9	0,980	0,958	0,924	0,86	1,00	0,86	0,6	98,0	82,6	< 0,001
	Kontrolle	39	0,3										
Thrombozyten (x1000/ μ l)	Fall	79	85,0	0,958	0,922	0,995	0,87	0,97	0,85	163,0	83,3	97,0	< 0,001
	Kontrolle	39	236,0										
HÄMOLYSEMARKER													
LDH (U/l)	Fall	77	273,0	0,967	0,936	0,924	0,90	0,97	0,87	196,5	98,6	82,6	< 0,001
	Kontrolle	39	152,0										

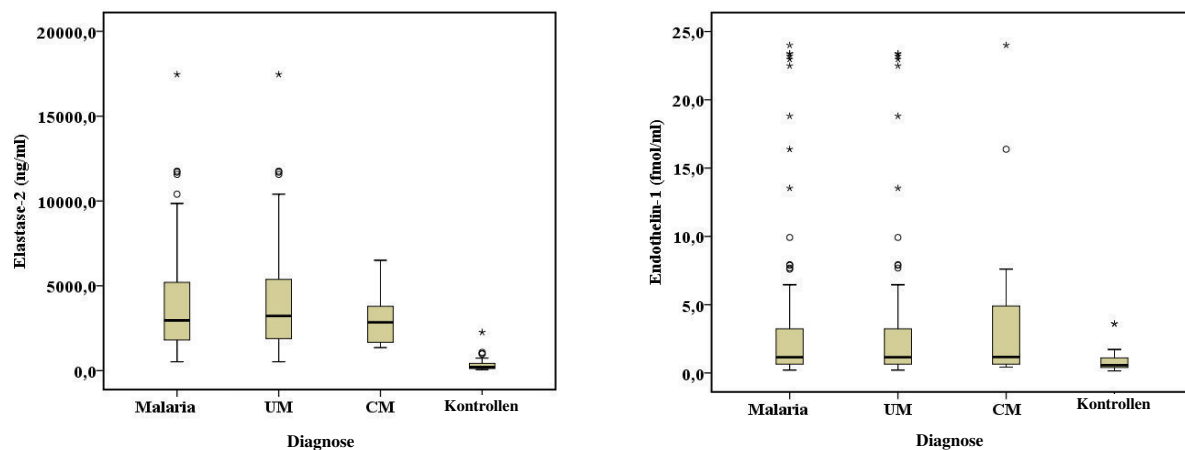
95% CI = 95% Konfidenzintervall für AUROC; *p-Wert für AUROC; **PPV: positiv prädiktiver Wert; ***NPV: negativ prädiktiver Wert

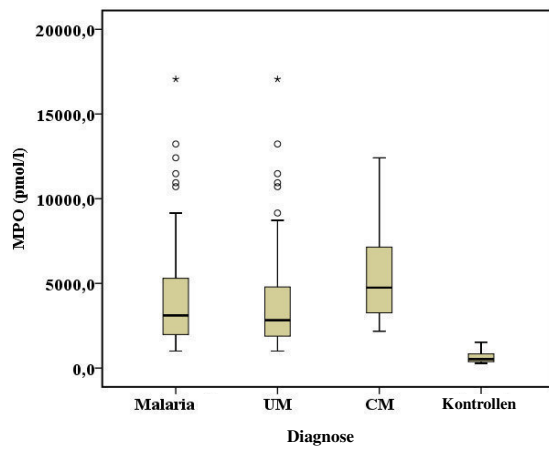
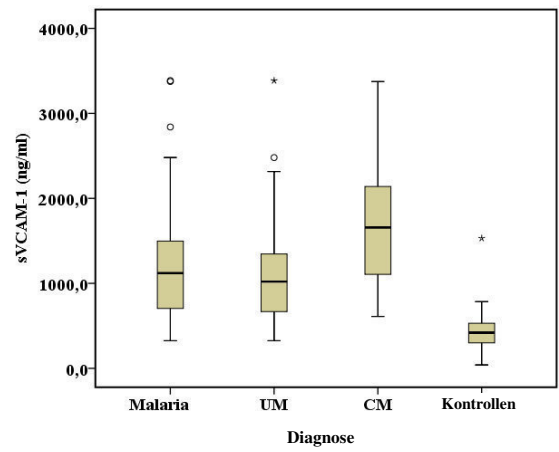
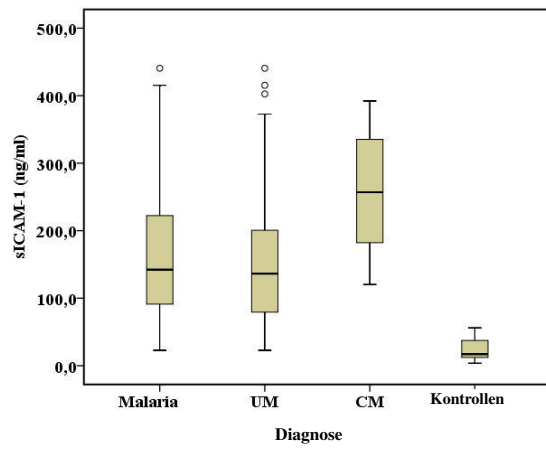
Abb. 2: Gemessene Konzentrationen der inflammatorischen, der Endothel- und der kardialen Marker sowie der Marker einer Koagulopathie und der Hämolyse in allen Malariapatienten, unkomplizierter und komplizierter Malaria tropica und in der Kontrollgruppe

MARKER EINER INFLAMMATION

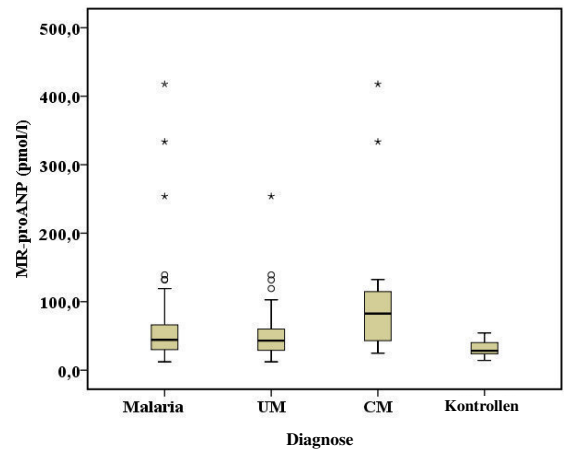
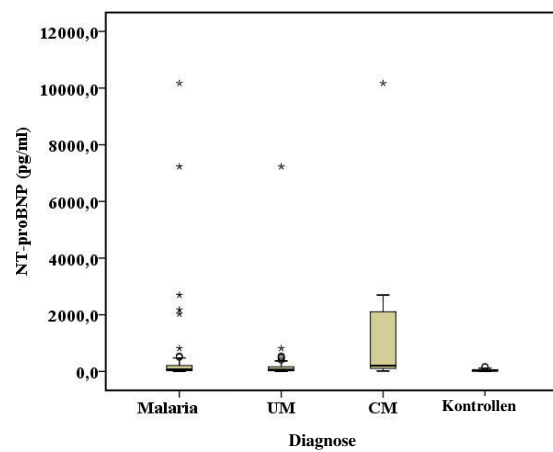


MARKER EINER ENDOTHELAKTIVIERUNG

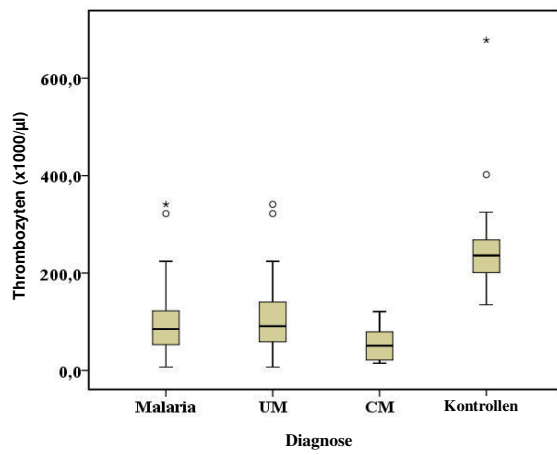
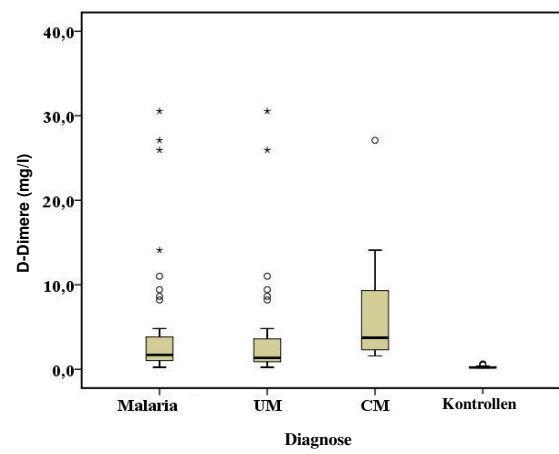
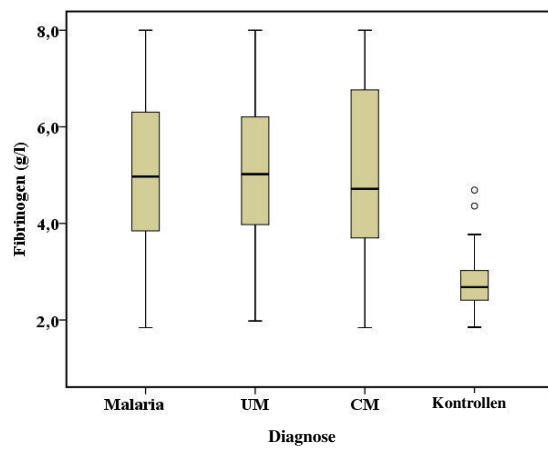




MARKER EINER KARDIALEN DYSFUNKTION



MARKER EINER KOAGULOPATHIE



HÄMOLYSEMARKER

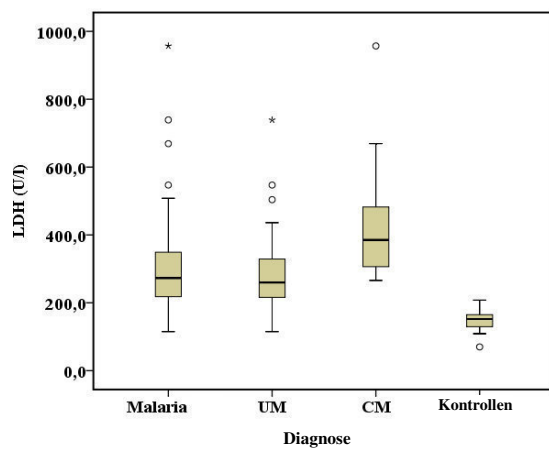
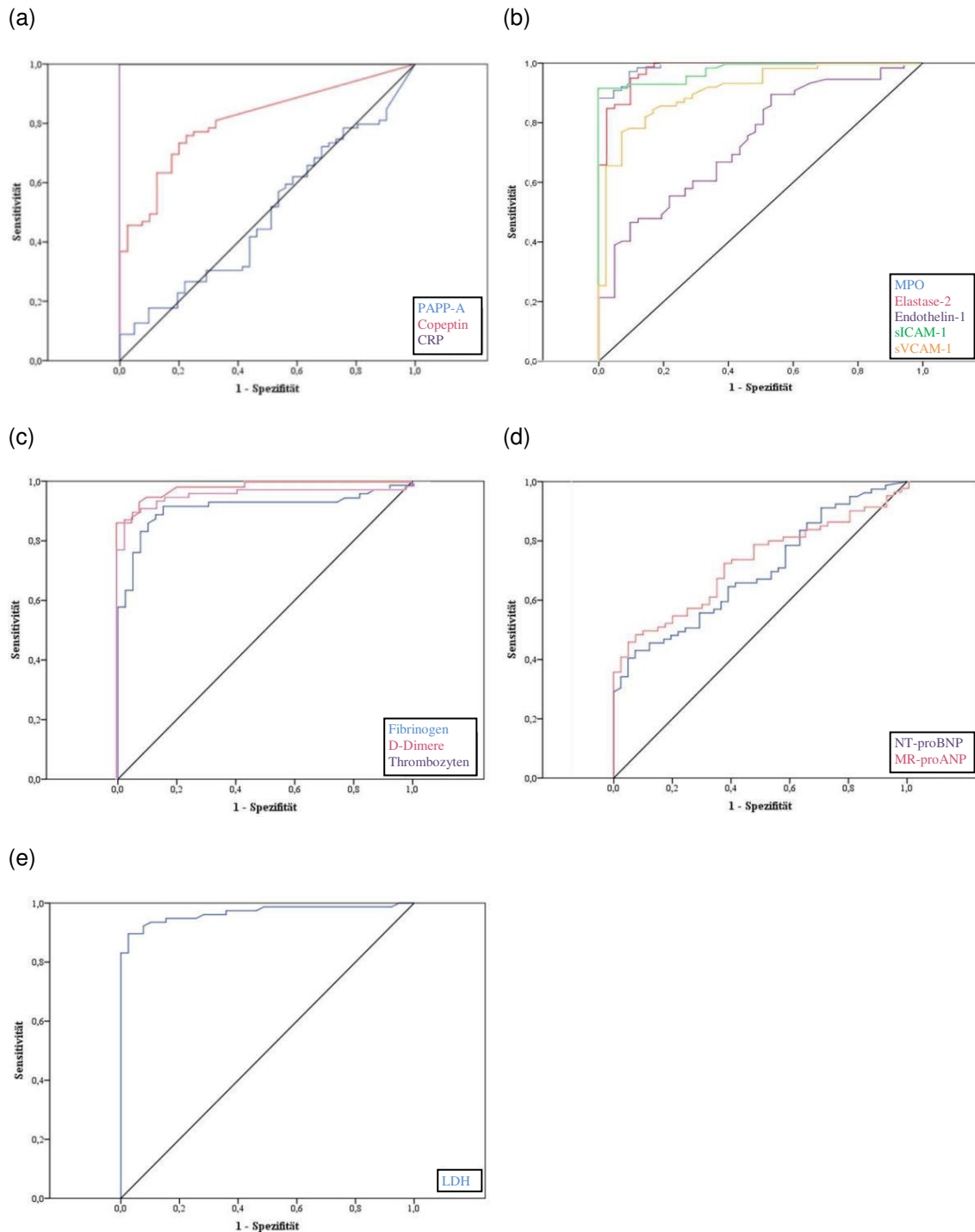


Abb. 3: ROC-Analysen, Darstellung der diagnostischen Güte der Marker einer Inflammation (a), einer Endothelaktivierung (b), einer Koagulopathie (c), einer kardialen Dysfunktion (d) und einer Hämolyse (e)



Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Gerd-Dieter Burchard und Herrn Dr. med. Jakob Cramer danke ich herzlich für die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Curriculum Vitae

Der Lebenslauf entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen.

11 Eidesstattliche Versicherung

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

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

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

Unterschrift: