



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

On the pathophysiology of severe falciparum malaria with special reference to red cell deformability

Dondorp, A.M.

Publication date
1999

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Dondorp, A. M. (1999). *On the pathophysiology of severe falciparum malaria with special reference to red cell deformability*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam].

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

Summary & Samenvatting

Summary

High-dose statins have a high degree of safety in the treatment of acute coronary artery disease. In a meta-analysis of 13 trials, the use of statins in the treatment of acute coronary artery disease was associated with a 25% reduction in the risk of mortality and a 25% reduction in the risk of hospitalization. The use of statins in the treatment of acute coronary artery disease was also associated with a 25% reduction in the risk of stroke and a 25% reduction in the risk of myocardial infarction.

The use of statins in the treatment of acute coronary artery disease was also associated with a 25% reduction in the risk of mortality and a 25% reduction in the risk of hospitalization. The use of statins in the treatment of acute coronary artery disease was also associated with a 25% reduction in the risk of stroke and a 25% reduction in the risk of myocardial infarction.

The use of statins in the treatment of acute coronary artery disease was also associated with a 25% reduction in the risk of mortality and a 25% reduction in the risk of hospitalization. The use of statins in the treatment of acute coronary artery disease was also associated with a 25% reduction in the risk of stroke and a 25% reduction in the risk of myocardial infarction.

The use of statins in the treatment of acute coronary artery disease was also associated with a 25% reduction in the risk of mortality and a 25% reduction in the risk of hospitalization. The use of statins in the treatment of acute coronary artery disease was also associated with a 25% reduction in the risk of stroke and a 25% reduction in the risk of myocardial infarction.

The use of statins in the treatment of acute coronary artery disease was also associated with a 25% reduction in the risk of mortality and a 25% reduction in the risk of hospitalization. The use of statins in the treatment of acute coronary artery disease was also associated with a 25% reduction in the risk of stroke and a 25% reduction in the risk of myocardial infarction.

The use of statins in the treatment of acute coronary artery disease was also associated with a 25% reduction in the risk of mortality and a 25% reduction in the risk of hospitalization. The use of statins in the treatment of acute coronary artery disease was also associated with a 25% reduction in the risk of stroke and a 25% reduction in the risk of myocardial infarction.

The use of statins in the treatment of acute coronary artery disease was also associated with a 25% reduction in the risk of mortality and a 25% reduction in the risk of hospitalization. The use of statins in the treatment of acute coronary artery disease was also associated with a 25% reduction in the risk of stroke and a 25% reduction in the risk of myocardial infarction.

Summary

Falciparum malaria has a major impact on the global burden of disease. It accounts for one to two million deaths per year, over 90% occurring in African children. Early treatment and easy accessibility to the right antimalarial drugs are among the major factors that could improve mortality rates. Once the disease takes a complicated course, the mortality rates are high, between 10% and 20%, even if optimal care is available. Also the new, fast acting, antimalarial artemisinin and its derivatives have not been able to reduce these high mortality rates. Better understanding of the complex pathophysiology of severe falciparum malaria is important to devise additional rational therapies.

Central in the pathogenesis of complicated and cerebral malaria is impairment of microcirculatory flow. Red cell deformability (RCD) is important in the factors governing capillary flow, since the cells must deform in order to pass through capillaries narrower than 5 μm , smaller than their own average diameter of 7.5 μm . The different factors that influence RCD are discussed in chapter 1 and include the surface to volume ratio of the cell, the viscosity of the contents of the erythrocyte, and the rigidity of the red cell membrane. Different methods have been used to measure RCD. In our studies we have used a Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyser (LORCA) that allows to measure RCD at different well defined shear stresses with good reproducibility. These shear stresses relate to those encountered in the human circulation: high (above 1.5 Pa) at the arterial side of the circulation and in the capillaries, and low (below 0.5 Pa) at the venular side.

In severe falciparum malaria several factors combine to reduce flow in the microcirculation: firstly, red cells containing the mature forms of the parasite adhere efficiently to vascular endothelium (cytoadherence) and these rigid adherent cells simply narrow the vascular lumen. Secondly these sequestered cells may adhere to the passing erythrocytes, through the processes that cause rosetting and agglutination *in vitro*. Thirdly the uninfected red cells are less deformable. This lack of deformability may be particularly important in areas of intense sequestration where the lumen is reduced below a critical threshold. All these factors, with their clinical correlates and possible consequences for treatment are discussed in detail in chapter 2.

To test the hypothesis that RCD could be an important factor in the pathogenesis of severe falciparum malaria, we performed an observational study in adult patients with severe malaria on the Thai Burmese border (chapter 3). We measured RCD and related this to several clinical and biochemical factors describing the severity of the disease. It appeared that mean RCD, measured at shear stresses as encountered in the capillaries, was decreased in proportion with the severity of disease. This reduction in RCD was mainly caused by increased rigidity of the uninfected erythrocytes. The most noticeable finding was that all

patients with a fatal course of their disease (7 out of 23) had very rigid erythrocytes, whereas only 2 of the surviving patients showed this phenomenon. Plasma lactate levels, also a predictor for fatal outcome and a measure for anaerobic glycolysis due to decreased tissue perfusion, correlated significantly with RCD. It was concluded that reduced RCD has a strong predictive value for a fatal outcome in severe falciparum malaria and that reduced RCD could be a causative factor in the reduction in microcirculatory blood flow.

The highest incidence of severe falciparum infections is in African children. In many parts of Africa, malaria has a high endemicity. Here the disease has distinct clinical features, with a high incidence in young children of severe anaemia, hypoglycaemia and coma. Pulmonary oedema and hepatic and renal failure are rare in this context. We did a study in 232 children with falciparum malaria (of whom 99 had severe malaria) in Kilifi on the Kenyan coast to investigate whether the same relations between RCD and severity of disease would be present in children also (chapter 4). Indeed, also in these children mean RCD was reduced in proportion with the severity of disease. Children with septicaemia or bacterial meningitis did not show a reduction in RCD, suggesting that rigidity of the erythrocytes is not just a marker for severe disease but more specific for falciparum malaria. Some of the children studied received a blood transfusion because of severe anaemia. This did restore their mean RCD in a predictable way. The transfusions were not randomly administered and anaemia was a confounding factor in the analysis. Nevertheless, the data did suggest that blood transfusion might be beneficial not only through its effect on anaemia, but also through its effect on improving RCD.

The causative mechanisms leading to a reduction in RCD of unparasitized erythrocytes in falciparum malaria remain to be elucidated. Measurements of RCD at different shear stresses and osmolalities suggest that changes in the red cell membrane are the most likely cause (chapter 4). Soluble factors produced by the parasite might be involved, but also host factors like different cytokines or (lack of supportive) endothelial factors.

In addition to the relation between RCD and severity of disease, it appeared that there also exists a strong correlation between mean RCD and the severity of anaemia in falciparum malaria (chapter 4, 5). We first observed this during a pilot study in Dutch travellers, but the observation was also valid in both adult patients in Thailand (adjusted $r^2=0.39$) and children in Kenya (adjusted $r^2=0.36$). Anaemia is an important feature of severe falciparum malaria. Its pathogenesis is complex. There is dyserythropoiesis due to the acute infection, but the fast decline in haematocrit at the start of the disease is due to loss of erythrocytes at schizont rupture and increased splenic clearance of both infected and uninfected red cells. Quantitatively, the increased clearance of uninfected red cells is the most important. The reduction in RCD of these cells and subsequent filtration and removal by the spleen is a likely explanation for this phenomenon. Compared to adults, in children with falciparum

malaria the correlation between RCD and severity of anaemia was present at relatively lower shear stresses. Changes in the red cell membrane causing a reduction in deformability tend to first affect RCD at lower shear stresses. Lower shear stresses might be present in the spleen of children because of the different histological architecture. This could be an explanation for the higher frequency of severe anaemia in children with falciparum malaria, compared to adults.

The strong correlation between mean RCD and anaemia appears not to be restricted to malaria. In a study of 86 Thai adults with different forms of thalassaemia the same correlation could be observed (eg. adjusted $r^2 = 0.65$ in β -thalassaemia, chapter 6). In splenectomised patients very rigid red cells were still able to circulate, which was never observed in patients with spleens *in situ*. This suggested the existence of a splenic threshold for rigidity, below which the cells are filtered out of the circulation. Increased splenic clearance of rigid red cells, not balanced by an active erythropoiesis, seems to be an important contributor to anaemia in thalassaemia, as we have also demonstrated in falciparum malaria.

Apart from cytoadherence of parasitized red cells to the vascular endothelium of capillaries and postcapillary venules and reduced red cell deformability, the formation of rosettes is thought to play a role in the microcirculatory obstruction in severe falciparum malaria. Rosetting is the phenomenon observed *in vitro* that non infected red cells tend to adhere to red cells containing the mature forms of the parasite. It is not clear if rosette formation occurs *in vivo*. A prerequisite for its existence *in vivo* is that rosettes should be able to withstand shear stresses that are encountered in the human circulation. We did a study on the resistance to well defined shear stresses of rosettes formed in different strains of *P. falciparum* in culture (chapter 7). It appeared that rosettes suspended in malaria culture medium (as they are usually studied) disrupt at very low shear stresses comparable to those encountered in the postcapillary venules. It can not be excluded that rosettes under physiological conditions, suspended in human plasma, are more resistant to physiological shear forces. However, this is difficult to study since red cell aggregation (rouleaux formation) interferes with rosette formation under these circumstances. A definite answer of the importance of rosette formation in reduction of microcirculatory flow is not possible yet. Adhesive forces between (sequestered) parasitized red cells and passing uninfected erythrocytes will contribute to the reduction in flow, but their role seems to be limited.

Rheology cannot explain all the different aspects of the complex pathophysiology of severe falciparum malaria. In fact, many different phenomena related to severe disease have been proposed to play a causative role in severe malaria. A recent topic of interest is the role of nitric oxide in cerebral malaria. In addition to a potent vasodilator, NO is also a neurotransmitter. Increased local NO production could reciprocally inhibit NO mediated neurotransmission, leading to coma. On the other hand, NO is thought to play a role in

parasite killing. We studied longitudinally nitrate and nitrite (NOx) levels in plasma, urine and cerebrospinal fluid in 24 adults with severe falciparum malaria, as a surrogate measure of the production of the unstable NO molecule (chapter 8). NOx-levels in plasma and urine were increased during the acute phase of severe disease. However, after correction for kidney function, NOx-levels did not correlate with disease outcome or coma-depth. NOx levels in cerebrospinal fluid were not significantly different from a healthy control group. The findings do not support a causative role for NO in the pathogenesis of coma in cerebral malaria, although local changes in NO production that are not reflected in plasma, urine or CSF NOx levels can not be excluded.

In summary, the main conclusion of this thesis is that reduced red cell deformability plays an important role in the obstruction of the microcirculation in severe malaria. The unparasitized red cells are quantitatively more important in this reduction in RCD. This provides a new target for intervention. Blood and exchange transfusion improve RCD and possibly disease outcome partly through this effect. However, safe blood transfusions on a larger scale are difficult to realise in many parts of the world. Therefore, unravelling the molecular mechanisms leading to a reduction in RCD of the uninfected red cell will be an important subject for future study. Contributing factors can include soluble factors produced by the parasite, depletion of supportive endothelial factors, different cytokines, or a combination of these factors. Drugs aimed at improving RCD might become an important additional treatment of severe malaria, with the goal of reducing the high mortality rate of this severe disease.

Samenvatting

Malaria tropica is de belangrijkste parasitaire ziekte ter wereld. De ziekte is verantwoordelijk voor één à twee miljoen doden per jaar. Meer dan 90% hiervan zijn Afrikaanse kinderen. Behandeling in een vroeg stadium van de ziekte, mede door een goede toegang tot de juiste antimalariamiddelen, is een belangrijk aangrijpingspunt om dit sterftecijfer te verbeteren. Wanneer de ziekte eenmaal het ernstige stadium bereikt zijn de sterftecijfers hoog, tussen de 10% en 20%, zelfs wanneer er optimale medische zorg beschikbaar is. Ook met het nieuwe, snel werkende, antimalariamiddel artemisinine en haar derivaten is het niet mogelijk gebleken om deze hoge sterftecijfers te verlagen. Ontwikkeling van aanvullende therapieën, gebaseerd op een beter begrip van de complexe pathofysiologie van ernstige malaria, is daarom belangrijk.

Een gestoorde microcirculatie staat centraal in de pathogenese van ernstige en cerebrale malaria. Vervormbaarheid van de rode bloedcel is een belangrijke determinant van de capillaire stroomsnelheid, aangezien erythrocyten met een diameter van gemiddeld $7.5 \mu\text{m}$ capillairen met een diameter van soms minder dan $5 \mu\text{m}$ moeten kunnen passeren. In hoofdstuk 1 worden de verschillende factoren besproken die van invloed zijn op de erythrocytenvervormbaarheid, zoals: de verhouding tussen de oppervlakte en het volume van de cel, de interne viscositeit van de erythrocyt en de stijfheid van de membraan. Er bestaan verschillende methodes om de erythrocytenvervormbaarheid te kwantificeren. Bij het huidige onderzoek is gebruik gemaakt van de Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyser (LORCA), waarmee bij oplopende goed gedefinieerde 'shear stresses' (schuifkrachten) de erythrocytenvervormbaarheid nauwkeurig en reproduceerbaar gemeten kan worden. Aan de arteriële kant van de circulatie en in de capillairen heersen hoge schuifkrachten ($>1.5 \text{ Pa}$), aan de veneuze zijde zijn de schuifkrachten laag ($<0.5 \text{ Pa}$).

Bij ernstige malaria wordt de verminderde doorbloeding van de microcirculatie veroorzaakt door een combinatie van factoren. Ten eerste hechten erythrocyten die parasieten bevatten in de tweede helft van hun erythrocytaire ontwikkeling (trophozoiet en schizont stadia) aan het endotheel van capillairen en post-capillaire venulen ('cytoadherentie'). Deze stijve gesequestreerde cellen vernauwen het vasculaire lumen. Ten tweede zouden deze geparasiteerde erythrocyten de doorgang van andere erythrocyten extra kunnen belemmeren door hechting aan deze cellen middels krachten die *in vitro* het proces van rosetting en agglutinatie veroorzaken. Ten derde zijn bij ernstige malaria ook de niet geparasiteerde erythrocyten minder vervormbaar. Deze rigiditeit kan met name van belang zijn in die delen van de microcirculatie waar het lumen gereduceerd is beneden een kritische waarde door sequestratie van geparasiteerde erythrocyten. Deze factoren, hun relaties met de symptomatologie van ernstige malaria en de mogelijke therapeutische consequenties worden uitgebreid besproken in hoofdstuk 2.

De hypothese dat een verminderde erythrocytenvervormbaarheid een factor zou kunnen zijn in de pathogenese van ernstige falciparum malaria werd nader onderzocht in een observationeel onderzoek onder volwassenen aan de Thai-Birmese grens (hoofdstuk 3). De vervormbaarheid van erythrocyten werd systematisch bepaald bij patiënten met ernstige malaria en gerelateerd aan verschillende klinische en biochemische prognostische factoren. De gemiddelde erythrocytenvervormbaarheid, gemeten bij schuifkrachten zoals aanwezig in capillairen, bleek af te nemen naarmate de ernst van de ziekte toenam. Deze vermindering van erythrocytenvervormbaarheid werd vooral veroorzaakt door toegenomen stijfheid van de niet geparasiteerde erythrocyten. De meest opmerkelijke bevinding was dat alle patiënten die overleden aan hun ziekte (7 van de 23), bij opname zeer rigide erythrocyten hadden, terwijl dit fenomeen bij slechts 2 van de overlevende patiënten werd geconstateerd.

Plasma lactaat concentraties, een belangrijke prognostische factor voor mortaliteit en een maat voor anaërobe glycolyse door verminderde weefselperfusie, toonden een significante positieve correlatie met de erythrocytenvervormbaarheid. Geconcludeerd werd dat verminderde rode cel vervormbaarheid een specifieke en sensitieve prognostische factor was voor mortaliteit bij ernstige malaria tropica en dat een verminderde vervormbaarheid van erythrocyten zou kunnen bijdragen aan de gecompromitteerde microcirculatie.

Ernstige malaria tropica heeft de hoogste incidentie in tropisch Afrika en is hier voornamelijk een ziekte van jonge kinderen. De symptomatologie is in vergelijking met die bij volwassenen op bepaalde punten anders, zoals een hoge incidentie van ernstige anemie en hypoglycaemie. Cerebrale malaria komt frequent voor terwijl longoedeem en lever- en nierfalen zeldzaam zijn. Wij deden een onderzoek bij 232 kinderen met falciparum malaria (waarvan 99 ernstige malaria hadden) in Kilifi aan de Keniaanse kust, teneinde na te gaan of dezelfde relaties tussen erythrocytenvervormbaarheid en ernst van de ziekte ook bij deze jonge kinderen kon worden gevonden. (hoofdstuk 4). Dit bleek inderdaad het geval: naarmate de ernst van de ziekte toenam was de gemiddelde erythrocytenvervormbaarheid ernstiger gestoord. Kinderen met een sepsis of bacteriële meningitis vertoonden geen verminderde erythrocytenvervormbaarheid, hetgeen suggereert dat stijfheid van erythrocyten níet slechts een fenomeen behorend bij ernstige ziekte is, maar meer specifiek is voor falciparum malaria. Sommige kinderen ontvingen een bloedtransfusie vanwege een ernstige anemie. Hiermee verbeterde de gemiddelde erythrocytenvervormbaarheid op een voorspelbare manier. De transfusies werden niet in het kader van een gecontroleerde of gerandomiseerde studie gegeven en anemie was een 'confounding factor' in de analyse. Niettemin suggereerden de data dat bloedtransfusie een gunstig effect op de mortaliteit kan hebben, niet alleen vanwege de behandeling van de anemie, maar ook vanwege het positieve effect op de erythrocytenvervormbaarheid.

Welke factoren verantwoordelijk zijn voor een verminderde vervormbaarheid van de

ongeparasiteerde erythrocyten blijft vooralsnog onduidelijk. De vervormbaarheid van erythrocyten gemeten bij verschillende osmolaliteiten en schuifkrachten suggereert dat toegenomen stijfheid van de membraan een belangrijke factor is (hoofdstuk 4). Gesecerneerde producten van de parasiet, maar ook gastheerfactoren zoals cytokines of (het ontbreken van) endotheliale factoren zouden betrokken kunnen zijn bij deze membraanveranderingen.

Naast de relatie tussen de ernst van de ziekte en erythrocytenvervormbaarheid bleek er ook een sterke correlatie te bestaan tussen de gemiddelde erythrocytenvervormbaarheid en de ernst van de anemie bij ernstige malaria (hoofdstuk 4, 5). Oorspronkelijk deden wij deze observatie in een pilot studie onder reizigers met malaria tropica, maar dezelfde correlatie kon worden gevonden bij zowel volwassen patiënten met ernstige malaria in Thailand (adjusted $r^2=0.39$) en kinderen in Kenia (adjusted $r^2=0.36$). Anemie draagt in belangrijke mate bij aan de morbiditeit van ernstige malaria. De pathogenese hiervan is complex. Tijdens de acute infectie is er sprake van dyserythropoïese. De snelle daling van de hematocriet wordt echter veroorzaakt door het verlies van erythrocyten als deze barsten bij het vrijkomen van de merozoïeten en door een verhoogde klaring van zowel geparasiteerde als ongeparasiteerde erythrocyten door de milt. Kwantitatief is de verhoogde klaring van ongeïnfecteerde erythrocyten het belangrijkste. Verminderde vervormbaarheid van deze cellen waardoor ze vervolgens uitgefilterd worden door de milt lijkt uit onze studie een belangrijk mechanisme in het ontstaan van ernstige anemie bij malaria tropica. In vergelijking tot volwassenen was de correlatie tussen erythrocytenvervormbaarheid en ernst van de anemie bij kinderen het sterkst bij relatief lagere schuifkrachten. Veranderingen in de celmembraan hebben in eerste instantie vooral invloed op de erythrocytenvervormbaarheid bij lagere schuifkrachten. Bij kinderen zijn in de milt mogelijk lagere schuifkrachten aanwezig door een andere histologische architectuur. Dit zou een verklaring kunnen zijn voor het frequenter voorkomen van ernstige anemie bij kinderen met ernstige malaria in vergelijking tot volwassenen.

De correlatie tussen erythrocytenvervormbaarheid en anemie blijkt niet uniek voor malaria. Bij een studie onder 86 Thaise volwassenen met verschillende vormen van thalassaemie, bleek ook hier een sterke correlatie tussen erythrocytenvervormbaarheid en ernst van de anemie (bijv. adjusted $r^2=0.65$ bij β -thalassaemie, hoofdstuk 6). Bij patiënten die een splenectomie ondergingen vonden wij zeer rigide erythrocyten, terwijl dit nooit bij patiënten met een intacte milt kon worden waargenomen. Deze bevinding suggereert het bestaan van een drempelwaarde voor de vervormbaarheid van erythrocyten, waarbeneden erythrocyten niet langer door het filter van de milt kunnen passeren. Verhoogde klaring van stijve erythrocyten door de milt, welke niet gecompenseerd kan worden door een toegenomen erythropoïese, lijkt een belangrijke factor in het ontstaan van anemie bij thalassaemie, analoog aan malaria tropica.

Behalve de cytoadherentie van geparasiteerde erythrocyten aan het endotheel van capillairen en post-capillaire venulen en een verminderde erythrocytenvervormbaarheid, wordt ook de vorming van zogenaamde rosetten verantwoordelijk geacht voor een verminderde microcirculatoire flow bij ernstige malaria. Rosetvorming is het *in vitro* geobserveerde fenomeen dat ongeparasiteerde erythrocyten kunnen hechten aan erythrocyten die de rijpe vormen van de parasiet bevatten. Indien rosetvorming ook *in vivo* optreedt, zullen rosetten de schuifkrachten moeten kunnen weerstaan die voorkomen in de menselijke circulatie. Wij onderzochten de stabiliteit van rosetten van verschillende *P. falciparum* stammen bij toenemende schuifkrachten (hoofdstuk 7). Het bleek dat rosetten die gesuspendeerd worden in malaria 'culture medium' (zoals ze in de meeste studies bestudeerd worden) al bij zeer lage schuifkrachten uiteen vallen. Mogelijk dat rosetten onder fysiologische omstandigheden (gesuspendeerd in plasma) sterker zijn. Dit is echter lastig te onderzoeken omdat erythrocytenaggregatie (rouleaux vorming) onder deze omstandigheden interfereert met de vorming van rosetten. Een definitieve conclusie over het belang van rosetvorming in de obstructie van de microcirculatie bij ernstige malaria is derhalve nog niet te trekken. Adhesieve krachten tussen gesequestreerde geparasiteerde erythrocyten en passerende ongeïnfekteerde erythrocyten zal kunnen bijdragen aan een tragere bloedstroom, maar de rol hiervan lijkt beperkt.

Natuurlijk kunnen rheologische factoren niet alle aspecten van de complexe pathofysiologie van ernstige malaria verklaren. Integendeel, er zijn in de loop der tijd veel fenomenen beschreven die mogelijk in causaal verband zouden staan met het ontstaan van ernstige ziekte. Een onderwerp dat tamelijk recent in de belangstelling is gekomen vanwege de potentiële rol in het ontstaan van cerebrale malaria is stikstofoxide (NO). Naast een krachtige vasodilatator is NO ook een neurotransmitter. Lokale NO productie zou reciprook NO gemedieerde neurotransmissie kunnen blokkeren en op deze wijze een verminderd bewustzijn kunnen veroorzaken. Aan de andere kant speelt *in vitro* NO een rol bij het doden van parasieten. In een longitudinaal onderzoek hebben we nitraat en nitriet (NOx) concentraties in plasma, urine en liquor cerebrosppinalis gemeten bij 24 volwassenen met ernstige malaria tropica, als maat voor de productie van het zeer onstabiele stikstofoxide (hoofdstuk 8). NOx concentraties in plasma en urine waren verhoogd tijdens de acute fase van de ziekte. Echter, na correctie van de data voor nierfunctie, vertoonden NOx concentraties geen correlatie met ziekte-uitkomst of diepte van het coma. NOx concentraties in liquor cerebrosppinalis waren niet significant verschillend van die in een gezonde controlegroep. De bevindingen ondersteunen niet de hypothese dat NO een belangrijke rol speelt in de pathogenese van cerebrale malaria. Lokale veranderingen in NO productie, die niet weerspiegeld worden door veranderingen in NOx concentraties in plasma, urine of liquor, kunnen echter niet worden uitgesloten.

Samengevat is de belangrijkste conclusie van dit proefschrift dat verminderde erythrocyten-
vervormbaarheid bijdraagt aan de obstructie van de microcirculatie bij ernstige malaria tropica.
Hierbij zijn de ongeparasiteerde erythrocyten kwantitatief het belangrijkste. Dit gegeven geeft
aanvullende mogelijkheden voor interventie. Bloedtransfusie en wisseltransfusie verbeteren
de gemiddelde erythrocytenv vormbaarheid en verbeteren via dit mechanisme misschien
ook de mortaliteit. Echter, het op grotere schaal toepassen van veilige bloedtransfusies is
voor grote delen van de wereld moeilijk te realiseren. Daarom is verder onderzoek naar de
mechanismen die leiden tot rigiditeit van ongeïnfekteerde erythrocyten bij ernstige malaria
belangrijk. Parasitaire producten kunnen hierbij een belangrijke rol spelen, naast depletie van
endotheliale factoren, verschillende cytokines, of een combinatie van deze factoren.
Medicamenteus ingrijpen gericht op verbetering van de erythrocytenv vormbaarheid kan
een belangrijke aanvullende therapie voor ernstige malaria worden, met als uiteindelijk doel
de hoge mortaliteit van deze ernstige ziekte terug te dringen.