

Rosana Maria Feio Libonati

Avaliação dos níveis séricos de
cortisol e dehidroepiandrosterona
em pacientes com malária por
Plasmodium falciparum
não - complicada

Belém - Pará
1997

ROSANA MARIA FEIO LIBONATI

**Avaliação dos níveis séricos de cortisol e
dehidroepiandrosterona em pacientes com malária por
Plasmodium falciparum não-complicada**

Belém – Pará

1997

ROSANA MARIA FEIO LIBONATI

**Avaliação dos níveis séricos de cortisol e
dehidroepiandrosterona em pacientes com malária por
Plasmodium falciparum não-complicada**

Plano de dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará e Instituto Evandro Chagas para obtenção do grau de Mestre em Medicina Tropical.

Orientador: Prof. José Maria de Souza, PhD, MD – Universidade Federal do Pará / Instituto Evandro Chagas.

Co-orientadora: Prof^a. Berenice Bilharinho de Mendonça, PhD, MD – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Belém – Pará

1997

616.9362
b 696a
Dis
ex. 2

Libonati, Rosana Maria Feio

Avaliação dos níveis séricos de cortisol e dehidroepiandrosterona em pacientes com malária por *Plasmodium falciparum* não-complicada, Belém, 1998 .

99 p.

Dissertação (Mestrado)

1. Malária por *Plasmodium falciparum* – fisiopatogenia 2. Malária por *Plasmodium falciparum* – imunomodulação 3. Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal – malária por *Plasmodium falciparum* 4. Cortisol 5. Dehidroepiandrosterona I. Título.

CDD 616.9362

612.45

ROSANA MARIA FEIO LIBONATI

Avaliação dos níveis séricos de cortisol e dehidroepiandrosterona em pacientes com malária por *Plasmodium falciparum* não-complicada

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará e Instituto Evandro Chagas como requisito para obtenção do grau de Mestre em Medicina Tropical, sob orientação do Prof. Dr. José Maria de Souza e co-orientação da Prof^a. Dra. Berenice Bilharinho de Mendonça, para apreciação da banca examinadora formada pelos doutores:

Presidente: Dr. José Maria de Souza
Serviço de Parasitologia - Instituto Evandro Chagas
Núcleo de Medicina Tropical – Universidade Federal do Pará

1º Examinador:.....

2º Examinador:.....

3º Examinador:.....

"A sabedoria é fácil de adquirir e torna feliz quem a possui. Ela antecipa-se aos que a desejam. Anda por todas as partes, buscando os que são dignos de a encontrar e alegremente se lhes mostra no caminho."

(Livro da sabedoria 6, 12 - 16)

Aos meus pais,
por seu carinho, amor e constante apoio na
busca dos meus ideais.

Ao Neto,
por seu amor e compreensão.

Ao Daniel,
o amor de minha vida.

Aos meus irmãos,
meus companheiros inseparáveis.

AGRADECIMENTOS

À Coordenadoria do Curso de Mestrado em Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, em especial à Dra. Ermelinda Moutinho da Cruz, por seu empenho e dedicação na realização deste mestrado.

Ao Instituto Evandro Chagas pela possibilidade de desenvolvimento desta tese e grande apoio na realização deste mestrado.

Ao Programa de Malária do Instituto Evandro Chagas, que tornou possível a realização desta pesquisa.

Ao Dr. José Maria de Souza, por sua amizade, por seus ensinamentos, por seu incentivo no campo da Medicina Tropical e orientação no desenvolvimento desta tese.

À Dra. Berenice Bilharinho de Mendonça, mentora desta tese, por sua amizade, ensinamentos, orientação e por sua ajuda na parte laboratorial, sem a qual seria impossível a realização desta pesquisa.

Ao Dr. José Antônio Maués, pela compreensão, amizade, grande incentivo e ajuda na parte laboratorial, sem a qual seria impossível a realização desta pesquisa.

Ao Dr. Alexandre da Costa Linhares, por sua amizade, ensinamentos, leitura crítica dos originais e grande apoio no desenvolvimento desta tese.

Ao Dr. Manuel Ayres, pela amizade, ensinamentos e ajuda na área da Estatística.

Ao Dr. Habib Frahia Neto, por seus ensinamentos e leitura crítica dos originais.

À Dra. Marinete Marins Póvoa, por seus ensinamentos e leitura crítica dos originais.

Aos professores do Mestrado em Medicina Tropical, por seus ensinamentos e contribuição na realização deste mestrado.

À Dra. Salma Oliveira, por sua amizade e ajuda na parte laboratorial.

Ao Sr. Miguel Arcanjo dos Santos, por sua amizade e ajuda na coleta do material.

À bioquímica Filomena Pinheiro Maués, por sua amizade e ajuda na realização dos exames laboratoriais.

Aos amigos do Ambulatório de Malária, médicos, microscopistas, estagiários e agentes de saúde por sua amizade e colaboração.

Às minhas amigas e companheiras desta jornada, Consuelo Silva de Oliveira, Esther Castelo Branco Mello Miranda, Rita Uchôa, Vera Lúcia Reis Souza de Barros e Helena Andrade Zeferino Brígido, por sua amizade e incentivo.

À Nazária Higashi, Glads Maria Diniz Marins e Raimundo Nonato Costa dos Santos, pela amizade e colaboração na parte bibliográfica desta pesquisa.

Aos pacientes, pela boa vontade em participar desta pesquisa.

SUMÁRIO

Página

	LISTA DE ABREVIATURAS	
	LISTA DE GRÁFICOS	
	LISTA DE TABELAS	
	RESUMO	
	ABSTRACT	
1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1	MALÁRIA.....	18
2.1.1	Considerações Gerais.....	18
2.1.2	Fisiopatogenia da malária por <i>Plasmodium falciparum</i>	23
2.1.3	Resposta imune à malária por <i>Plasmodium falciparum</i>	25
2.2	OS GLICOCORTICÓIDES.....	29
2.2.1	Regulação e ação dos glicocorticóides.....	29
2.2.2	Interação neuro-imune-endócrina.....	32
2.3	MALÁRIA E GLICOCORTICÓIDES.....	34
2.4	DEHIDROEPIANDROSTERONA.....	36
3	CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS.....	39
3.1	PACIENTES.....	39
3.1.1	Critérios de inclusão.....	39
3.1.2	Critérios de exclusão.....	39
3.1.3	Aspectos epidemiológicos e clínicos.....	40
3.2	COLETA DE MATERIAL.....	40
3.3	EXAME PARASITOLÓGICO.....	41
3.4	DOSAGEM DO CORTISOL.....	42
3.5	DOSAGEM DE DHEA.....	43
3.6	DETECÇÃO DE ANTICORPOS PARA <i>P. FALCIPARUM</i> E <i>P. VIVAX</i>	43
3.7	MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....	44
3.7.1	Cortisol.....	44
3.7.2	DHEA.....	44

3.7.3	Correlações.....	45
3.7.4	Dados epidemiológicos e clínicos.....	46
4	RESULTADOS	47
4.1	DADOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	47
4.2	DADOS CLÍNICOS.....	48
4.3	NÍVEIS DE PARASITEMIA ASSEXUADA.....	51
4.4	ESQUEMAS TERAPÊUTICOS.....	52
4.5	NÍVEIS DE IgM e IgG.....	53
4.6	NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL EM D0, D1 E D7.....	58
4.7	NÍVEIS SÉRICOS DE DHEA EM D0 E D7.....	60
4.8	CORRELAÇÃO ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL E PARASITEMIA.....	61
4.9	CORRELAÇÃO ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE DHEA E PARASITEMIA.....	64
4.10	CORRELAÇÃO ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL E DHEA.....	65
4.11	CORRELAÇÃO ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL, DHEA E TEMPERATURA AXILAR NO MOMENTO DA COLETA NO PRÉ-TRATAMENTO.....	67
4.12	CORRELAÇÃO ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL, DHEA E ANTICORPOS TOTAIS IgG ANTI- <i>P. FALCIPARUM</i> EM D0.....	70
4.13	CORRELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL, DHEA E TEMPO DE EVOLUÇÃO DA DOENÇA (TED).....	70
4.14	CORRELAÇÃO ENTRE TEMPERATURA AXILAR NO MOMENTO DA COLETA, TEMPO DE EVOLUÇÃO DA DOENÇA E PARASITEMIA EM D0.....	73
5	DISCUSSÃO	74
6	CONCLUSÕES	83
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
	ANEXOS	95

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AVP	Vasopressina
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
DHEA	Dehidroepiandrosterona
DHEA - S	Dehidroepiandrosterona sulfato
dL	Decilitro
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
FAP	Fator ativador de plaquetas
FNT	Fator de necrose tumoral
HLA	Antígeno leucocitário de histocompatibilidade
HPA	Hipotálamo-hipófise-adrenal
Ig	Imunoglobulina
IL	Interleucina
Ln	Log neperiano
mL	Mililitro
ng	Nanograma
TED	Tempo de evolução da doença
μg	Micrograma

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico	Título	Página
1	Correlação entre passado malárico e títulos de anticorpos totais anti- <i>P. falciparum</i> de 24 pacientes de malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA. IEC. Belém – Pará, 1996.	56
2	Correlação entre títulos de anticorpos IgG anti- <i>P. vivax</i> e títulos de anticorpos IgG anti- <i>P. falciparum</i> em D0 de 24 pacientes de malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA. IEC. Belém – Pará, 1996.	56
3	Correlação entre passado malárico e títulos de anticorpos IgG anti- <i>P. vivax</i> em D0 de 24 pacientes de malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA. IEC. Belém – Pará, 1996.	57
4	Correlação entre níveis séricos de cortisol em D0 e parasitemia em D1 de 24 pacientes de malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA. IEC. Belém – Pará, 1996.	63
5	Correlação entre níveis séricos de cortisol em D1 e parasitemia em D1 de 24 pacientes de malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA. IEC. Belém – Pará, 1996.	63
6	Correlação entre níveis de parasitemia assexuada e DHEA em D0 de 16 pacientes de malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA. IEC. Belém – Pará, 1996.	64
7	Correlação entre níveis de parasitemia assexuada em D1 e DHEA em D0 de 16 pacientes de malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA. IEC. Belém – Pará, 1996.	65
8	Correlação entre níveis séricos de cortisol e DHEA em D0 de 16 pacientes de malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA. IEC. Belém – Pará, 1996.	66
9	Correlação entre níveis séricos de cortisol e DHEA em D7 de 16 pacientes de malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA. IEC. Belém – Pará, 1996.	66
10	Correlação entre temperatura axilar à hora da coleta e cortisol em D0 de 23 pacientes de malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA. IEC. Belém – Pará, 1996.	69

- 11 Correlação entre temperatura axilar à hora da coleta e DHEA em D0 de 15 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA. IEC. Belém – Pará, 1996. 69
- 12 Correlação entre níveis séricos de cortisol e TED em D0 de 24 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA. IEC. Belém – Pará, 1996. 71
- 13 Correlação entre níveis séricos de DHEA e TED em D0 de 16 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA. IEC. Belém – Pará, 1996. 71
- 14 Correlação entre níveis séricos de cortisol e TED em D7 de 21 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA. IEC. Belém – Pará, 1996. 72
- 15 Correlação entre níveis séricos de DHEA e TED em D7 de 16 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA. IEC. Belém – Pará, 1996. 72
- 16 Correlação entre temperatura axilar à hora da coleta e TED de 23 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA. IEC. Belém – Pará, 1996. 73

LISTA DE TABELAS

Número	Título	Página
1	Passado malárico dos 24 pacientes de malária por <i>Plasmodium falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - Pará, 1996.	48
2	Freqüência e intensidade dos sintomas e sinais observados no período pré-tratamento de 24 pacientes de malária por <i>Plasmodium falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - Pará, 1996.	49
3	Freqüência e intensidade dos sintomas e sinais observados em D1 de 24 pacientes de malária por <i>Plasmodium falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - Pará, 1996.	50
4	Parasitemia assexuada em D0, D1, D2, D3 e D4 dos 24 pacientes com malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - Pará, 1996.	51
5	Velocidade de negatificação da parasitemia assexuada de 22 pacientes de malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - Pará, 1996.	52
6	Passado malárico, tempo de evolução da doença e níveis de anticorpos IgM anti- <i>P. falciparum</i> e IgG anti- <i>P. falciparum</i> e anti- <i>P. vivax</i> , pré-tratamento, referentes aos 24 pacientes de malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - Pará, 1996.	55
7	Níveis séricos de cortisol em D0, D1 e D7 e turno de coleta dos 24 pacientes de malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - Pará, 1996.	59
8	Sexo e níveis de DHEA em D0 e D7 de 16 pacientes de malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - Pará, 1996.	60
9	Níveis de cortisol e parasitemia assexuada em D0 e D1 dos 24 pacientes de malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - Pará, 1996.	62
10	Temperatura axilar no momento da coleta em D0 de 23 pacientes de malária por <i>P. falciparum</i> incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - Pará, 1996.	68

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi avaliar o comportamento dos níveis séricos de cortisol e dehidroepiandrosterona (DHEA) em pacientes com malária por *Plasmodium falciparum*. Como o cortisol apresenta um efeito imunossupressor e o DHEA um efeito imunoestimulador, estudou-se a correlação entre os níveis destes esteróides e a condição clínica do paciente de malária. A amostra constou de 24 pacientes com malária por *P. falciparum* não-complicada, sendo 18 do sexo masculino e 6 do sexo feminino, com idade variando de 15 a 47 anos, 12 primoinfectados e 12 multi-infectados, provenientes de área endêmica de malária da Amazônia. Coletaram-se amostras diárias de sangue de 20 em 20 minutos no pré-tratamento (D0), 24 horas após o início da medicação (D1) e no 8º dia de acompanhamento (D7), quando o paciente já se encontrava assintomático. Todos os pacientes apresentavam parasitemia negativa em D7. Dosaram-se: os níveis séricos de cortisol em D0, D1 e D7; DHEA em D0 e D7; os níveis de anticorpos totais IgG anti-*P. falciparum*, anti-*P. vivax*, e anticorpos IgM anti-*P. falciparum* em D0. Compararam-se os níveis séricos de cortisol dos três dias, concluindo-se que os níveis de cortisol eram significativamente mais elevados em D0 do que nos outros dias. Foram correlacionados os níveis de cortisol com a parasitemia, obtendo-se como significativas as correlações entre cortisol D0 e parasitemia D1, assim como cortisol D1 com parasitemia D1, levando-se a deduzir que o cortisol pode interferir na resposta inicial à terapêutica de pacientes com malária por *P. falciparum*. O cortisol foi correlacionado com a temperatura, tempo de evolução da doença, níveis de anticorpos IgG anti-*P. falciparum*, não se obtendo resultados estatisticamente significativos, levando a inferir que a temperatura não interfere nos níveis de cortisol e o mesmo não interfere nos níveis de anticorpos, e não apresenta variações importantes com o tempo de evolução da doença. Os níveis de DHEA em D0, foram significativamente mais elevados do que em D7, apesar dos pacientes estarem sintomáticos há mais de um dia, já que um estímulo mantido do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) leva a uma diminuição deste esteróide. O DHEA foi correlacionado com a parasitemia, obtendo-se um resultado significativo na correlação DHEA D0 com parasitemia D1. A correlação entre cortisol e DHEA em D0 não foi significativa ($p = 0,057$), porém este resultado leva a crer que o DHEA acompanha o aumento dos níveis de cortisol. Obteve-se uma correlação negativa entre DHEA e tempo de evolução de doença, apesar destes níveis estarem aumentados no pré-tratamento. Calculou-se a correlação parcial entre cortisol, DHEA e temperatura, concluindo-se que a temperatura interfere positivamente na correlação cortisol e DHEA. Uma vez que a febre reflete o momento em que ocorre a lise das hemácias secundária a esquizogonia, provavelmente esta lise com conseqüente liberação de citocinas serve como um fator agudizador da estimulação do eixo HPA, sugerindo que a liberação dos dois hormônios apresenta mecanismo comum. A correlação entre DHEA e anticorpos não foi significativa, portanto o DHEA não deve interferir na produção de anticorpos de pacientes com malária por *P. falciparum*.

ABSTRACT

The main purpose of our study was to determine the levels of both cortisol and dehydroepiandrosterone (DHEA) in serum samples from patients suffering from *Plasmodium falciparum* malaria. Since cortisol is potentially immunosuppressive, and, conversely, DHEA is inherently immunopotentiating, we sought to assess the possible association between serum levels of these steroids and patient's clinical conditions. We enrolled to participate in this study 24 patients aged 12 to 47 years, of whom 18 were male and 6 female, suffering from uncomplicated *P. falciparum* malaria. All patients lived in areas of the Amazon where malaria is endemic. Half of them were found to be primo-infected, whereas the others were being reinfected by *P. falciparum* when recruited for this investigation. Blood samples were obtained from each patient as follows: at 20-minute intervals during the pre-treatment phase (i. e. on day 0, D0), 24 hours after starting drug therapy (D1) and at the 8th day of follow-up (D7), when patients were asymptomatic. All patients at D7 presented with negative parasitemia. Serum levels of cortisol and DHEA were measured on D0, D1 and D7 and D0 and D7, respectively. In addition, the determination of IgG antibodies to both *P. falciparum* and *P. vivax* was performed only on D0. Our results indicated that levels of cortisol in serum samples collected on D0 were significantly higher than those of D1 and D7. High levels of cortisol on D0/D1 and significant parasitemia on D1 led us to postulate that this corticosteroid may interfere with the initial response of *P. falciparum*-infected patients to treatment. The cortisol levels did not correlate with the intensity of fever, duration of illness and the levels of IgG antibodies to *P. falciparum*. These findings suggest that temperature does not interfere with the cortisol levels, and these, on the other hand, do not significantly relate to either antibody response or the duration of illness. The DHEA levels were found to be significantly more elevated on D0 than on D7, even though patients were already symptomatic for more than one day when first serum samples were taken. The progressive decrease in the DHEA levels is therefore likely to be mediated by a continuous stimulus from the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. Similarly to cortisol, the DHEA levels on D0 correlated significantly with D1 parasitemia. Thus, it is suggested that in cortisol levels parallels that for DHEA. Of interest, the DHEA serum levels seem to inversely correlate with the duration of illness, in spite of high levels of this steroid detected at the pre-treatment phase. A not significant correlation has been noted if cortisol and DHEA serum levels are compared with temperature. This clinical parameter, however, was found to directly interfere with the correlation that exist between both cortisol and DHEA levels. It is known that fever reflects the occasion when erythrocytes disrupt from the schizogony, with release of cytokines, which act as an acute stimulating factor for the HPA axis. It would therefore be proposed that liberation of both hormones has a common mechanism. The lack of significant interrelationships between DHEA levels and IgG antibodies indicates that this hormone does not seem to interfere with the production of antibodies by *P. falciparum* infected patients.

1 INTRODUÇÃO

A malária é uma das principais endemias mundiais e, no Brasil, a Região Amazônica concorre com mais de 95 % dos casos. A malária por *P. falciparum*, apesar de ser menos freqüente na região, reveste-se de grande importância devido à sua fisiopatogenia que pode levar a eventos de grande morbidade capazes de culminar com a morte do paciente. A fisiopatogenia da malária por esta espécie de plasmódio ainda não está totalmente entendida, e até a metade deste século, achava-se que a infecção por este plasmódio tinha a insuficiência suprarrenal como papel importante na sua patogênese, até que, em 1969, Brooks *et al* mostraram que a função suprarrenal se encontrava intacta nos pacientes.

Atualmente, sabe-se que na malária por *P. falciparum* são liberadas citocinas, como a interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (FNT), sendo esta liberação estimulada, principalmente, por produtos da ruptura do esquizonte e também em parte pela resposta ao estresse causado pela doença (Kwiatkowski, 1995). Estas citocinas estimulam o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) com liberação do cortisol que apresenta um efeito imunomodulador, inibindo a resposta inflamatória, o que traduz interação do sistema imune com o sistema neuro-endócrino (Figura 1) (Tsigos & Chrousos, 1994).

Estudos sobre a dehidroepiandrosterona (DHEA), um esteróide secretado pela córtex adrenal, que também sofre estimulação direta do eixo hipotálamo-hipofisário, têm evidenciado uma ação positiva deste esteróide sobre a resposta imune, apresentando, portanto, um efeito contrário ao cortisol, ou seja, anti-glicocorticóide (Araneo & Daynes, 1995; Browne *et al.*, 1992).

Tendo em conta as propriedades imunossupressoras e anti-inflamatórias dos corticosteróides, a ação imunoestimuladora do DHEA e a interação dos sistemas imune e neuroendócrino, resolveu-se avaliar os níveis destes esteróides na malária por *P. falciparum*, tendo como:

OBJETIVO GERAL: avaliar se há correlação entre os níveis séricos de cortisol e DHEA com a condição clínica de pacientes com malária por *P. falciparum*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- a) avaliar os níveis séricos de cortisol e DHEA em pacientes com malária por *P. falciparum*;
- b) verificar se existe correlação entre os níveis séricos de cortisol, DHEA e a parasitemia;
- c) verificar se existe correlação entre os valores séricos de cortisol, DHEA e níveis de anticorpos;
- d) verificar se existe correlação entre os níveis séricos de cortisol, DHEA e temperatura;
- e) avaliar se há correlação entre os níveis de cortisol, DHEA e tempo de evolução da doença.

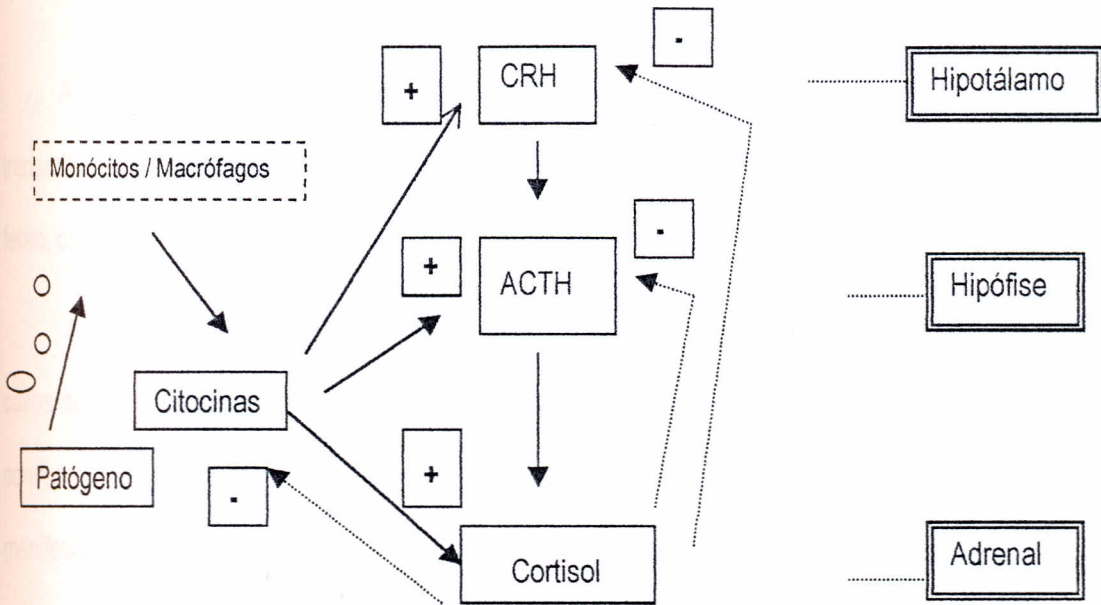


Figura 1. Interação neuro-imune-endócrina

CRH: fator liberador de corticotrofina

ACTH: hormônio adrenocorticotrófico ou corticotrofina

Linhas cheias: estimulação

Linhas pontilhadas: supressão

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MALÁRIA

2.1.1 Considerações gerais

A malária é uma doença infecciosa aguda, causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, transmitida ao homem pela picada de vetores do gênero *Anopheles*, e caracterizada por paroxismos de febre, calafrio e cefaléia.

A palavra malária, cujo significado é mau ar (mal'aria), surgiu na Itália no século XVII, onde os casos de febre romana eram atribuídos ao mau ar que vinha dos pântanos. Os parasitas da malária têm convivido com o homem desde o princípio dos tempos, tendo sido Hipócrates o primeiro a descrever as manifestações da doença e relacioná-las à época do ano e local onde as pessoas viviam. Em 1889, Laveran identificou o protozoário causador da doença, e em 1897 foi demonstrado que o vetor é o mosquito *Anopheles*, o que veio possibilitar um incremento no combate à malária (Bruce-Chwatt, 1980a).

A malária é causada por protozoários da família *Plasmodiidae*, gênero *Plasmodium*, sendo que apenas quatro espécies podem causar doença no homem: o *Plasmodium (Plasmodium) vivax* (Grassi e Feletti, 1890), o *Plasmodium (Laverania) falciparum* (Welch, 1897), o *Plasmodium (Plasmodium) malariae* (Laveran, 1881, Grassi e Feletti, 1890) e o *Plasmodium (Plasmodium) ovale* (Stephens, 1922) (Bruce-Chwatt, 1980b). No Brasil, apenas as três primeiras espécies são encontradas, com predominância do *P. vivax*, representando cerca de 70% dos casos, seguido pelo *P. falciparum* (Marques & Cárdenas Gutierrez, 1994).

O parasita é transmitido naturalmente, de uma pessoa a outra, pela picada de uma fêmea de mosquito anofelino infectada, pois somente esta é hematófaga, já que precisa do sangue para o amadurecimento dos ovos. O macho, por sua vez, se alimenta apenas do suco das plantas. Existem cerca

de 400 espécies de anofelinos, mas apenas 60 espécies podem transmitir a malária ao homem (Rey, 1992a). No Brasil, os principais vetores são: *Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi*, *Anopheles (Nyssorhynchus) aquasalis*, *Anopheles (Nyssorhynchus) albitarsis*, *Anopheles (Kertessia) cruzii* e o *Anopheles (Kertessia) bellator*. Destes, são de maior importância o *A. (N.) darlingi*, que é responsável pelos casos no interior em uma grande área do território nacional, e o *A.(N.) aquasalis*, responsável pela transmissão no litoral. A malária também pode ser transmitida por transfusão de sangue, pelo uso de agulhas e seringas contaminadas, por acidentes em laboratório ou via neo-natal (Tauil, 1996).

O parasita da malária possui um ciclo evolutivo complexo, em que uma parte se passa no homem (hospedeiro vertebrado) e outra no mosquito (hospedeiro invertebrado). O ciclo parasitário no homem inicia-se quando o mosquito pica uma pessoa e injeta as formas infectantes do *Plasmodium* (esporozoítos), que estavam acumuladas na saliva. Após cerca de 15 e 45 minutos, estas formas já não se encontram mais no sangue, sendo transportadas até o fígado, onde invadem as células e se multiplicam. Nos hepatócitos, elas se multiplicam assexuadamente por esquizogonia, que resulta na formação dos esquizontes teciduais primários. Após 6 a 16 dias, dependendo da espécie, essas formas, uma vez maduras, rompem-se e liberam os merozoítos (até 40.000 para *P. falciparum*, 15.000 para *P. ovale*, 10.000 para *P. vivax* e 2.000 para *P. malariae*) nos capilares intra-hepáticos (Ferreira, 1996). Nas infecções por *P. vivax* e *P. ovale*, algumas formas, denominadas hipnozoítos, permanecem latentes no fígado por meses ou anos, responsáveis pelas recaídas observadas nas infecções causadas por estas duas espécies de plasmódios. Essa etapa do ciclo é denominada esquizogônica tecidual secundária, sendo que nessa fase não se encontra parasita na circulação. Nas infecções por *P. falciparum* e *P. malariae* esta etapa secundária do ciclo não ocorre, portanto não há recaídas nestes dois tipos de malária (Rey, 1992b).

Os merozoítos hepáticos penetram nas hemácias, onde se transformam em trofozoítos jovens, que crescem e se dividem por esquizogonia, dando origem aos esquizontes hemáticos que, após o rompimento

das hemácias, liberam os merozoítos hemáticos na circulação, que invadem outras hemácias repetindo o ciclo. Essa fase do ciclo é chamada esquizogônica eritrocítica. Neste estágio, os parasitas metabolizam a hemoglobina da hemácia, originando a hemozoina ou pigmento malárico, que se deposita em vários órgãos durante a evolução clínica da doença. Após algum tempo, que pode variar de 3 a 15 dias, alguns merozoítos diferenciam-se em gametócitos feminino (macrogametócito) e masculino (microgametócito) que são as formas infectantes para o mosquito. A esquizogonia hemática para o *P. vivax*, *P. falciparum* e *P. ovale* dura em torno de 48 horas, enquanto para o *P. malariae*, 72 horas. A lise das hemácias, consequência da esquizogonia, é a responsável pelas manifestações clínicas da malária, ou seja, os acessos febris e a anemia (Bruce-Chwatt, 1980b).

O ciclo no mosquito se inicia quando o mesmo suga o sangue de um paciente que é portador das formas sexuadas, os gametócitos, que são de dois tipos: o macrogametócito e o microgametócito. No estômago do mosquito, o macrogametócito passará a macrogameta ou gameta feminino, enquanto que o microgametócito sofre três mitoses das quais resultarão oito núcleos filhos que formarão outros tantos microgametas (gametas masculinos). Quando os gametas se unem, forma-se uma célula ovo ou zigoto. Cerca de 20 horas depois, o zigoto começa a deslocar-se com movimentos amebóides, razão pela qual passa a ser chamado oocineto. Este se dirige para o revestimento epitelial da parede intestinal do inseto, perfura-a e se aloja entre o epitélio e a membrana basal, ou no próprio epitélio. Após, segrega um envoltório protetor e, transformando-se em oocisto, cresce consideravelmente de tamanho. Então, inicia-se o processo de multiplicação esporogônica, mediante o qual produzem-se, no interior do oocisto, milhares de elementos filhos, os esporozoítos. O oocisto maduro rompe-se e libera os esporozoítos que invadem a hemolinfa do inseto, migrando muitos daí para as glândulas salivares do inseto, que ao picar uma pessoa inicia o ciclo no homem (Rey, 1992b).

A clínica da malária não-complicada é evidenciada pela febre intermitente, o calafrio, a cefaléia e a sudorese, que caracterizam o paroxismo febril ou acesso malárico. Além destes sintomas, o paciente pode apresentar: astenia; náuseas; vômitos; palidez; diarreia; dor abdominal; artralgia; mialgia; lombalgia; disúria; dispnéia; tosse; tontura; zumbidos; hipoacusia; hepatomegalia; esplenomegalia e icterícia. A severidade do quadro está na dependência de determinados fatores, como o grau de imunidade natural ou adquirida do hospedeiro. Na malária complicada, que é causada pelo *P. falciparum*, podem ocorrer alterações da consciência, crises convulsivas, coma, insuficiência renal, hipoglicemia, anemia grave, edema pulmonar, distúrbios hidroeletrólítico e ácido-básico, distúrbios da coagulação, hiperpirexia, hiperparasitemia, hemoglobinúria, colapso circulatório e choque, sendo estas complicações responsáveis por elevada mortalidade (Gilles, 1995).

O mecanismo da febre deve-se à ruptura do esquizonte hemático, com liberação do pigmento malárico e outros antígenos, em especial uma toxina, que estimulam os monócitos e macrófagos a liberarem pirógenos endógenos como a IL-1 e o FNT- α , este o mais importante. Essas citocinas atuam no centro termorregulador do hipotálamo, estimulando a síntese de prostaglandinas E_2 , o que desencadeia a resposta fisiológica da febre (calafrio, vasoconstrição periférica e aumento da taxa metabólica). A produção do FNT estimulada pela toxina malárica parece ser um fator importante na regulação do crescimento do parasita, pois esta citocina e a febre contribuem para a defesa do hospedeiro, uma vez que ambas concorrem para a morte do parasita, limitando ou reduzindo a densidade parasitária (Kwiatkowski, 1995).

Para a realização adequada do tratamento anti-malárico, é fundamental o conhecimento do ciclo biológico do plasmódio no homem. Deve-se, de preferência, utilizar medicamentos ou associações de medicamentos que atuem nas diferentes fases do ciclo. No tratamento da malária por *P. falciparum*, podem ser utilizados como esquizonticidas hemáticos de ação rápida os quinolinometanóis, como a quinina e a mefloquina, e os derivados da artemisinina que são as drogas de escolha no tratamento da malária

complicada. Pode-se associar aos esquizonticidas de ação rápida antibióticos como a tetraciclina e a clindamicina que são esquizonticidas de ação lenta. A primaquina, um derivado da 8-aminoquinoleína, que atua como esquizonticida tecidual, sangüíneo e gametocitocida, na malária por *P. falciparum* é usada apenas como droga gametocitocida, com objetivo de interromper a cadeia de transmissão (FNS, 1996).

Aproximadamente 40% da população mundial corre o risco de ser afetada pela malária e cerca de 1,5 milhão a 2,7 milhões de pessoas morrem a cada ano devido à doença. No passado, com ampla dispersão no mundo, a malária, atualmente, encontra-se confinada à África, Ásia e América Latina. A malária é endêmica em 91 países, constituindo-se um dos principais determinantes de morbidade e mortalidade naqueles em desenvolvimento, particularmente em áreas tropicais e subtropicais. Noventa por cento dos casos ocorrem na África tropical, concorrendo com 10 a 30% de todas as admissões hospitalares e sendo responsável por 15 a 25% de todas as mortes de crianças abaixo de 5 anos de idade. O restante dos casos ocorre, principalmente, em seis países, na seguinte ordem de importância: Índia, Brasil, Afeganistão, Sri-Lanka, Vietnam e Colômbia (WHO, 1994).

Em 1995, nas regiões das Américas, havia 774 milhões de habitantes, dos quais 248 milhões (32%) viviam em zonas onde as condições para transmissão da doença eram ideais (OPAS, 1996).

No Brasil, cerca de 98% dos casos se concentram na Região Amazônica, que possui as características propícias para que ocorra a transmissão da doença. Esta ocorre, em especial, nos Estados do Amazonas, Rondônia, Pará e Mato Grosso, onde alguns municípios concentram a grande maioria dos casos (Marques & Cárdenas Gutierrez, 1994).

A malária está associada com a deterioração social e econômica, e as principais vítimas são as populações rurais não-privilegiadas. Pressões demográficas, sociais e econômicas induzem esses contingentes populacionais a procurar melhores condições de vida, ocorrendo migrações dentro das áreas endêmicas e, destas, para aquelas livres da malária, o que resulta em novos focos. Infelizmente, esses

fluxos migratórios e a intensa urbanização, na maioria das vezes, não são acompanhados de programas adequados de saúde e saneamento (Molineux, 1988).

2.1.2 Fisiopatogenia da malária por *P. falciparum*

O *P. falciparum* é menos adaptado ao homem do que as outras espécies de plasmódio, por isso as infecções por este plasmódio costumam ser mais graves. Este tipo de malária quando não tratada pode levar à morte devido a complicações cerebrais, pulmonares e renais (Target, 1992).

A fisiopatogenia da malária por *P. falciparum* deve-se, basicamente, a três fatores: citoaderência, ação de citocinas e hiperparasitemia.

As hemácias infectadas pelo *P. falciparum* têm a capacidade de aderir às células do endotélio da microcirculação. Esta aderência é estimulada, principalmente, pelo contato da célula do endotélio vascular com o eritrócito infectado, em particular quando este contato se realiza no estágio em anel do eritrócito infectado e continua com o desenvolvimento do parasita para o estágio de trofozoíta até à fase de esquizonte (Udeinnya & Akogyeram, 1993). A superfície do eritrócito infectado é recoberta por protruções, chamadas "knobs", as quais aderem às células do endotélio vascular através de moléculas nas células endoteliais do hospedeiro, que servem de ligantes, denominadas CD36, CD54, molécula de adesão intercelular 1 (intercellular adhesion molecule 1 - ICAM-1), trombospondina, molécula de adesão endotelial 1 (endothelial adhesion molecule 1 - ELAM-1) e molécula de adesão vascular 1 (vascular adhesion molecule 1 - VCAM-1). Os eritrócitos infectados podem aderir a não-infectados, levando à formação de rosetas (Berendt *et al*, 1990; Wahlgren *et al*, 1994).

A aderência dos eritrócitos infectados às células do endotélio vascular leva à aglutinação dos eritrócitos nas arteríolas e vênulas, com comprometimento do fluxo arterial, sendo agravado pela formação de rosetas que contribuem para maior obstrução vascular. Este fenômeno tem papel crucial, já que obstruem a microcirculação na infecção por *P. falciparum*, levando a alterações cerebrais (malária

cerebral), pulmonares e renais que podem culminar com o óbito do paciente (Berendt *et al.*, 1990; Wahlgren *et al.*, 1994).

Vários estudos têm demonstrado a existência de uma correlação positiva entre a gravidade da malária por *P. falciparum* e níveis de citocinas, em especial, do FNT- α , da IL-1 α e β (Target, 1992; Kwiatkowski *et al.*, 1990).

Observou-se que monócitos/macrófagos são estimulados a produzir estas citocinas quando ocorre a ruptura do esquizonte, liberando para circulação antígenos do parasita, pigmento malárico e a toxina malárica, o que sugere serem, estes, os fatores estimuladores da produção das citocinas (Kwiatkowski, 1995; Pichyangkul *et al.*, 1994).

O FNT- α e a IL-1 apresentam efeito sinérgico, pois promovem resposta no hospedeiro, incluindo febre, que pode suprimir o crescimento do parasita, bem como induzem respostas inflamatória e metabólica, sendo que a primeira em quantidade excessiva pode levar a dano celular. Além disso, estimulam a adesão do eritrócito parasitado às células do endotélio vascular, agravando a aglutinação destes e, também, contribuindo para a obstrução vascular. O FNT- α e a IL-1 estimulam neutrófilos e macrófagos com subsequente liberação de radicais livres de oxigênio e óxido nítrico, o que ocasiona lesão celular (Rockett *et al.*, 1994; Clark *et al.*, 1989).

O FNT- α pode causar hipoglicemia e estimular a eritrofagocitose, agravando a anemia na malária. Outras ações do FNT- α são: déficit neurológico focal, afasia e fadiga severa (Clark *et al.*, 1989).

É considerada hiperparasitemia a existência de valores maiores que 250.000 formas assexuadas / mm^3 de sangue em indivíduos semi-ímmunes, e acima de 100.000 / mm^3 de sangue naqueles primoinfectados (Gilles, 1995).

Existe uma correlação positiva entre densidade parasitária e risco de morte, porque o comprometimento da microcirculação é mais amplo e os efeitos metabólicos são mais intensos (White *et al.*, 1985; Simulat & White, 1993).

As hemácias que contêm parasitas apresentam grande consumo de glicose, resultando na produção de ácido láctico. A febre e a infecção também aumentam este gasto. Como resultado, há elevado gasto de glicose, que contribui para a hipoglicemia e grande produção de lactato, em particular no LCR, servindo tal nível como indicador prognóstico na malária cerebral (White *et al.*, 1987).

A hiperparasitemia também é responsável, em grande parte, pela anemia na malária por *P. falciparum*. A peroxidação lipídica é outra complicação da hiperparasitemia que serviria como um mecanismo patogênico na malária severa e complicada. O ferro livre derivado do radical heme do pigmento malárico pode catalisar a peroxidação lipídica e radicais livres, ou superóxidos liberados por esta reação podem produzir dano tecidual (Gordeaux *et al.*, 1992).

2.1.3 Resposta imune à malária por *P. falciparum*

A suscetibilidade e resistência à malária podem ser determinadas geneticamente. A resistência natural à malária é evidente quando se correlacionam dados geográficos sobre a sua prevalência com determinadas condições clínicas. Anormalidades hereditárias das hemácias têm sido correlacionadas com proteção parcial à doença, tais como: anemia falciforme, as talassemias e a deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase. Os mecanismos protetores do polimorfismo eritrocítico são desconhecidos, mas a expressão antigênica aumentada na superfície das hemácias, possivelmente, leva a um "clearance" exacerbado, mediado por fatores imunes. Essa resistência natural pode ser crucial na proteção e sobrevivência antes da imunidade adquirida ser alcançada (Hogh, 1996a).

Hoje, sabe-se que variantes do antígeno leucocitário de histocompatibilidade (HLA) podem influenciar a resposta imune na malária por *P. falciparum*. Associações foram encontradas com dois tipos

de HLA: o antígeno HLA classe I, HLA-Bw53 se associa à proteção de 40% contra a malária cerebral e anemia malárica severa, e o antígeno HLA classe II, HLA-DRB1*1302 se associa, fortemente, à proteção contra a anemia malárica severa. Foi proposto que a associação HLA classe I é mediada por linfócitos T citotóxicos, atuando contra o parasita, enquanto se desenvolve no fígado, e a classe II reflete um "clearance" mais rápido da infecção no estágio sangüíneo (Hill, 1992).

A natureza da resposta imune do homem ao *P. falciparum* é determinada pelo ciclo de vida do parasita. Exposições repetidas ao *P. falciparum* por alguns anos são necessárias para construir uma imunidade clínica. Uma imunidade esterilizante nunca é alcançada, portanto, o homem jamais se torna verdadeiramente imune às reinfecções por este plasmódio. Em áreas onde a malária é endêmica, a incidência da doença e a densidade parasitária são maiores em crianças e declinam com a idade, sendo que o nível de transmissão determina a idade em que a imunidade é obtida (Molineaux, 1988). Tal condição é designada "premunição", ou seja, estado de equilíbrio entre hospedeiro e parasita, alcançado em um estágio crônico da doença, caracterizado por parasitemias relativamente baixas e pouco ou nenhum sinal da doença. Essa premunição é rapidamente perdida quando o hospedeiro fica por mais de um ano sem contato com o parasita (Pérignon & Druille, 1994).

O conceito de imunidade anti-doença sugere que a resposta imune frente a certos antígenos confere proteção contra sintomas e sinais, mas não contra o parasita, justificando altas parasitemias em indivíduos assintomáticos. Esta hipótese se baseia no fato de que antígenos que conferem imunidade anti-doença diferem daqueles que induzem imunidade anti-parasitária (Playfair *et al.*, 1990). Outros autores, testando esta hipótese, observaram que a imunidade anti-parasitária e clínica se desenvolvem concomitantemente e não podem ser separadas, isto é, uma densidade parasitária baixa resulta em sintomas menos severos (Petersen *et al.*, 1991).

A imunidade contra a malária é espécie-específica e estágio-específica. Respostas não-específicas que surgem durante o desenvolvimento ou destruição do parasita também estabelecem mecanismos de

proteção. As citocinas regulam a intensidade, duração e qualidade da resposta imune. O repertório de citocinas produzido durante uma resposta imune determina a produção de certa subclasse de anticorpo e o nível de ativação de células fagocíticas (Cox & Liew, 1992). As células T parecem ter uma função crucial na indução, modulação e manutenção da imunidade protetora à malária, funcionando como células efetoras ou auxiliares. Células apresentadoras de antígenos, como os macrófagos, são necessárias para a indução de linfócitos T CD4 que, quando ativados, secretam fatores imunorreguladores, tais como interferon- γ e IL-2, que ativam macrófagos e células T citotóxicas. Estudos "in vitro" têm mostrado que células estimuladas por cultura de *P. falciparum* produzem IL-2 e promovem diferenciação de células B seguida pela secreção de imunoglobulinas (Ig) (Ballet *et al.*, 1987).

Os mecanismos de defesa na malária atuam contra os esporozoítos, as formas hepáticas e as formas eritrocitárias assexuadas e sexuadas. A imunidade celular ao *P. falciparum* é mediada por macrófagos e neutrófilos, com e sem anticorpos específicos, e por citocinas, tais como o interferon- γ e FNT- α e reativos intermediários de oxigênio e nitrogênio (Taylor-Robinson, 1995).

O papel dos anticorpos na imunidade à malária está bem estabelecido, embora ainda seja obscuro o mecanismo como eles exercem seu efeito protetor. Anticorpos inibem a invasão de eritrócitos, promovem opsonização de merozoítos e eritrócitos infectados, para serem fagocitados pelos macrófagos, e liberam eritrócitos infectados aderidos nas células do endotélio vascular. Estudos têm demonstrado que os anticorpos protetores contra a malária podem atuar em sinergia com monócitos do sangue. Pertencem às subclasses IgG1 e IgG3, e são considerados citofílicos (Pérignon & Druille, 1994). Estudo realizado em área hiperendêmica leva a crer que a aquisição de um estado de resistência parece correlacionar-se com a habilidade de desenvolver anticorpos dos isotipos IgG3 e IgG1 e reduzir a proporção de isotipos não-citofílicos (IgG2 e IgM) que predominam em crianças e adultos com ataque primário (Bouharoun-Tayoun & Druille, 1992).

Em pesquisa desenvolvida no Acre, Brasil, estudando pacientes não-ímmunes e semi-ímmunes, estes considerados pelos autores indivíduos que tivessem apresentado três ou mais episódios de malária por *P. falciparum* em até dois anos, observou-se que a concentração de anticorpos IgG contra antígenos de esquizonte eram significativamente mais altos em pacientes semi-ímmunes, enquanto que os níveis de IgM e IgG eram mais elevados em pacientes não-ímmunes durante a fase aguda da doença, o que é provavelmente provocado pela ativação policlonal de células B (Kremsner et al., 1990).

Tem sido correlacionado o lento desenvolvimento da imunidade protetora à malária por *P. falciparum* em pessoas vivendo em áreas endêmicas com a tendência da infecção induzir imunodepressão. O plasmódio garante sua sobrevivência interferindo através de muitas vias na imunidade mediada por célula e imunidade humoral. Antígenos repetidos provocam exaustiva ativação não-específica de células B, podendo ter um papel na imunossupressão (Hogh, 1996b). As infecções por *P. falciparum* não induzem resposta ímune antígeno-específica, ou seja, aos antígenos maláricos. Ho et al. (1986) observaram que a depressão funcional estava associada à perda de linfócitos T, tanto os T auxiliares como os T supressores e, uma vez cessada a infecção, esta resposta é recuperada. Segundo estes autores, pacientes agudamente doentes ou mesmo com infecção recente por *P. falciparum* não responderiam tão bem à vacina da malária como os indivíduos não infectados.

A IL-2 tem importante papel na estimulação de crescimento e proliferação de células T previamente sensibilizadas, e foi observado que pacientes com infecção aguda não respondem a antígenos malária-específicos com produção de IL-2 ou expressão de receptor para IL-2. Isto pode explicar a incapacidade de resposta da célula T durante a infecção aguda. Observou-se, também, que infecções assintomáticas por *P. falciparum* podem causar imunossupressão, pois pacientes com malária apresentam resposta mais baixa de anticorpos a antígenos bacterianos (Hogh, 1996b). Além disso, os parasitas da malária exibem diversidade e variação antigênica, o que evidencia a capacidade de escape dos plasmódios à resposta ímune e sua grande adaptabilidade ao hospedeiro vertebrado (Target, 1992).

Como é sabido, virulência é a capacidade de determinado agente causar doença severa. Nas infecções por *P. falciparum* em indivíduos não-imunes, o sistema imunológico pode apresentar resposta acentuada, com produção excessiva de citocinas e conseqüente dano celular, levando à malária grave e complicada (Hommel, 1993).

2.2 OS GLICOCORTICÓIDES

2.2.1 Regulação e ação dos glicocorticóides

Hipotálamo, hipófise e adrenal formam um eixo neuroendócrino cuja função principal é a de regular a produção do cortisol. O hormônio liberador de corticotrofina (CRH), a arginina-vasopressina (AVP) e, possivelmente, outros fatores hipotalâmicos secretados dentro do sistema porta expõem a hipófise anterior a altas concentrações destes fatores antes de se diluírem na circulação. Estes fatores estimulam a síntese e liberação da corticotrofina ou hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) que, por seu turno, estimula a síntese e liberação dos esteróides adrenais, principalmente o cortisol (Miller & Tyrrel, 1995).

A atividade dos neurônios hipotalâmicos secretores do CRH é regulada por dois tipos de estímulo: um, relacionado ao estresse e o outro a um marca-passo biológico responsável pela secreção rítmica de ACTH que resulta no chamado ritmo circadiano (variações diurnas endógenas recorrentes regularmente durante um período de 24 horas), em que a concentração de ACTH e cortisol diminuem no decorrer do dia, apresentando níveis indetectáveis nas primeiras horas de sono. Após 2 a 3 horas, inicia-se um aumento de suas secreções, com pico entre 6 e 8 horas após o início do sono (Marcondes, 1992). O ACTH e o cortisol são liberados episodicamente, em pulsos a cada 30 a 120 minutos durante o dia, sendo que a freqüência e a amplitude desses pulsos são mais altas pela manhã (Miller & Tyrrel, 1995).

O termo glicocorticóide foi criado para denotar as propriedades de regulação da glicose por estes esteróides, como o aumento da neoglicogênese hepática. Porém, eles desempenham papel relevante com

relação ao metabolismo das gorduras e proteínas, além de seus efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores.

Os glicocorticóides alteram a resposta do hospedeiro a agentes infecciosos. Harvey Cushing notou que a síndrome que leva o seu nome, que é uma síndrome decorrente de um estado de hipercortisolismo crônico, tendo como causa mais comum o aumento da produção do ACTH hipofisário, parecia aumentar a suscetibilidade à infecção. Com a disponibilidade de glicocorticóides como agentes farmacológicos, ficou evidente que estes fármacos propiciam o aparecimento de infecções ou agravam as pré-existentes (Aucott, 1994).

Os glicocorticóides são potentes agentes anti-inflamatórios. Com efeito, eles inibem o acúmulo de leucócitos e a exsudação nos sítios de inflamação, bloqueiam a adesão de neutrófilos às células endoteliais, resultando em sua diminuição nos sítios inflamatórios e neutrofilia no sangue periférico. Não obstante, a quimiotaxia e a liberação de enzimas lisossomais são pouco afetadas com doses terapêuticas destes fármacos. Este efeito sobre as células endoteliais resulta em alteração da permeabilidade vascular, migração e exsudação de leucócitos nos sítios de inflamação, podendo resultar em infecções teciduais severas e retardo no reconhecimento de infecções bacterianas graves (Aucott, 1994). Também atuam alterando a apresentação do antígeno pelo macrófago ao linfócito, suprimem os mediadores locais da inflamação como a IL-1, IL-6, FNT, prostanóides, fator ativador de plaqueta (FAP) e óxido nítrico, sendo os três últimos as moléculas chaves na resposta inflamatória. Podem atuar também diminuindo a atividade fagocítica de monócitos e macrófagos (Bondy, 1985).

Os glicocorticóides também interferem na imunidade mediada por células. O bloqueio desta imunidade resulta de alterações no fluxo de linfócitos circulantes e redistribuição destes entre os diferentes tecidos, e até mesmo a morte de linfócitos. Isto resulta em linfocitopenia, observada quando da administração de corticosteróides e casos severos de síndrome de Cushing (Aucott, 1994). Eles inibem a proliferação de células T e a ativação destas células por suprimirem a produção de IL-2 e tradução do sinal

IL-2 dependente. Além disso, afetam, preferencialmente, subgrupos de células T, tais como linfócitos Th1. Outras citocinas importantes, como a IL-3, a IL-4, e interferon- γ são também inibidas pelos glicocorticóides (Stenberg *et al.*, 1992). Estes esteróides exercem menor impacto sobre a produção de imunoglobulinas. As células B, quando ativadas a se diferenciarem em plasmáticas, são resistentes à ação dos glicocorticóides e parece não ocorrer inibição da síntese ou diminuição do nível das imunoglobulinas, com baixas doses de glicocorticóides. Estes modulam a formação de anticorpos, em grande parte pelo nível de atividade de células T (Bondy, 1985). Altas doses de glicocorticóides podem aumentar o catabolismo de imunoglobulinas, que é seguido de uma produção diminuída dessas substâncias. Este declínio da produção de imunoglobulinas sob ação de glicocorticóides pode envolver alterações nos níveis de IL-1, IL-6, ou interferon- γ , ou diminuição da atividade de células T. Além disso, foi observada deficiência de IgG 1 e IgG 2 específicas em pacientes asmáticos em tratamento com corticosteróides, quando comparados àqueles sem uso de glicocorticóides (Aucott, 1994).

Todos esses efeitos dos glicocorticóides dependem de alterações na taxa de transcrição de genes que respondem aos glicocorticóides, ou trocas na estabilidade de RNA mensageiro de algumas proteínas inflamatórias. Estes esteróides suprimem a produção de IL-6 e IL-1 β , por diminuir a taxa de transcrição dos genes para estas interleucinas e a estabilidade de seu RNA mensageiro. Receptores de glicocorticóides ativados inibem a atividade pró-inflamatória de muitos fatores de crescimento e citocinas, bloqueando fatores de transcrição necessários para a expressão ou ação celular destas substâncias. Reciprocamente, concentrações intracelulares elevadas destes fatores impedem que os receptores de glicocorticóides ativados afetem o genoma (Chrousos, 1995).

2.2.2 Interação neuro-imune-endócrina

O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e o sistema nervoso simpático eferente constituem os componentes periféricos do sistema estresse, cuja função principal é manter a homeostase basal e relacionada ao estresse, sendo que os componentes deste sistema estão localizados no hipotálamo e no tronco cerebral (Tsigos & Chrousos, 1994).

Os neurônios do CRH e noradrenérgicos do sistema central do estresse inervam-se e estimulam-se mutuamente. Assim, o CRH estimula a secreção de norepinefrina, através de receptores específicos, e a norepinefrina estimula a secreção do CRH, primariamente, através de receptores α_1 – noradrenérgicos. Cada núcleo paraventricular no hipotálamo tem três divisões parvicelulares, uma mediana que produz principalmente CRH e o secreta dentro do sistema porta-hipofisário, uma intermediária que secreta AVP dentro do sistema porta-hipofisário, e um grupo lateral que primariamente produz CRH e inerva neurônios noradrenérgicos e outros neurônios do sistema estresse no tronco cerebral. Outros neurônios CRH paraventriculares inervam neurônios contendo pró-opiomelanocortina do sistema central do estresse no núcleo arqueado do hipotálamo, bem como neurônios em áreas de controle da dor, do cérebro e cordão espinhal. A ativação do sistema do estresse causa secreção de derivados pró-opiomelanocortina derivados de outros peptídeos opióides que aumentam a analgesia (Chrousos, 1995).

Sabe-se que o estresse psicossocial, infecções microbianas, dano tecidual, processo auto-imune e choque endotoxêmico estão associados a uma variedade de alterações metabólicas, tais como a ativação do eixo HPA, alteração nos níveis de hormônio tireoideano, alteração na função reprodutora e metabolismo dos hidratos de carbono. Mediadores químicos produzidos pelos linfócitos e monócitos, conhecidos como linfocinas e monocinas, são também produzidos em outros tecidos, além dos leucócitos, e apresentam um espectro de ações fisiológicas ou fisiopatológicas em adição à regulação do sistema imune. Estes

mediadores são conhecidos, genericamente, como citocinas e entre elas a IL-1, IL-2, IL-6 e FNT- α são os principais mediadores da inflamação (Imura *et al.*, 1991).

Tais citocinas são capazes de, direta ou indiretamente, influenciar a síntese e secreção do CRH e AVP no hipotálamo. Além disso, alguns eicosanóides e outros mediadores da inflamação, como as bradicininas, FAP e serotoninas, exibem forte propriedade ativadora de CRH (Tsigos & Chrousos, 1994). A IL-1 ativa o eixo HPA, agindo em diferentes níveis. Os efeitos agudos da IL-1 administrada intravenosa ou intracerebralmente são, principalmente, exercidos no hipotálamo, estimulando a liberação do CRH. Efeitos mais lentos se estabelecem aos níveis hipofisário e adrenal, aumentando a biossíntese do ACTH e de glicocorticóides. O FNT- α , IL-2 e IL-6 têm efeitos similares sobre o eixo HPA. Contrariamente, a ativação do eixo HPA tem profunda ação inibidora sobre a resposta imune inflamatória, porque virtualmente todos os componentes desta última são inibidos pelo cortisol. Os glicocorticóides exercem um "feedback" negativo, inibindo a ativação do eixo HPA, em resposta às citocinas, e também apresentam um efeito inibidor sobre o local da inflamação, por reduzir a produção e/ou secreção de citocinas (Imura *et al.*, 1991).

Pesquisa "in vitro" mostrou que o cortisol em doses de até 10 μg / ml inibe os níveis de mRNA da IL-1 β em monócitos. Quando o cortisol era removido, ocorria diferenciação e superprodução de mRNA IL-1 β , sendo que parte desta maturação é requerida para a célula ser capaz de produzir IL-1 β . Estas e outras funções dos macrófagos, dependendo do desenvolvimento total dessas células, também estavam afetadas, o que pode levar a uma resposta imune insuficiente em todos aqueles estados patológicos associados com hipercortisolismo (Baybutt & Holsboer, 1990).

Andrógenos adrenais com a configuração Δ^5 no anel A podem também modular a função imune. Um receptor da superfamília receptor-esteróide-tireóide específico para andrógenos adrenais Δ^5 foi detectado em linfócitos T. Isto, presumivelmente, permite que estes andrógenos aumentem a imunidade celular (Chrousos, 1995).

2.3 Malária e glicocorticóides

No passado, as infecções por *P. falciparum* eram correlacionadas à insuficiência adrenal devido à clínica que o paciente apresentava, o que envolvia adinamia intensa, eventualmente associada a náuseas, vômitos e hipotensão. Então, alguns pesquisadores resolveram estudar a função adrenal nos pacientes e observaram que esta se encontrava íntegra, com base nas dosagens de 17- hidroxisteróides e teste da metirapona (Brooks *et al.*, 1969).

Vários estudos na década de cinquenta foram realizados para avaliar o uso de glicocorticóides na infecção malárica. Schneider (1953) estudou o uso da cortisona nas infecções por *P. berghei*, *P. gallinaceum* e *P. vivax*, nas doses de 10 mg / kg, 50 mg / kg e 200 mg, respectivamente, e não observou qualquer espécie de ação sobre as manifestações clínicas e multiplicação do parasita. Em contrapartida, Schmidt & Squires (1951), estudando o uso da cortisona em macacos *Rhesus* infectados com *P. cynomolgi*, durante o ataque primário, registraram intensificação da parasitemia pós-crise. Caso administrada durante o período de latência, por outro lado, produzia o recrudescimento da infecção, sendo estes resultados atribuídos à involução do tecido linfóide.

Fulton (1954) observou que em roedores infectados por *P. berghei* recebendo cortisona subcutaneamente na dose de 25 mg / kg, não houve qualquer efeito significativo sobre a infecção. Singer (1954) também usou a cortisona na infecção por *P. berghei*, desta vez em camundongos albinos, e observou que os animais que recebiam cortisona evoluíam com parasitemias mais baixas e contagem de reticulócitos diminuída, determinando parasitemias mais baixas, já que faltava o substrato para o parasita.

Jackson (1955) estudando o uso da cortisona em ratos albinos, observou que ocorria um retardo do curso da infecção, apesar do aumento na sobrevivência; a mortalidade, porém foi maior do que nos murinos não-tratados com cortisona. O retardo no curso da infecção e o aumento da sobrevivência foram correlacionados com a contagem mais baixa de reticulócitos, pelo efeito depressivo que o hormônio exerce sobre o tecido hematopoiético e, uma vez que os reticulócitos são preferencialmente invadidos pelo *P.*

berghei, este não dispunha de um substrato ótimo no início da infecção. O aumento final na contagem de parasitas nos animais tratados com cortisona se deveu, provavelmente, à inibição do tecido linfóide, determinando aumento na taxa de mortalidade destes animais.

Cantrell & Kendrick (1963) pesquisando a atividade da cortisona e de drogas anti-maláricas em camundongos infectados por *P. berghei*, observou que doses diárias de 100 a 200 mg / kg causavam redução da parasitemia em 25% dos camundongos infectados, atuando sinergicamente com a cloroquina, primaquina e pirimetamina. Nesse estudo, a cortisona também causava redução na contagem de reticulócitos.

Pesquisadores observaram que camundongos CFW, BALB/c e C57BL/6 infectados com *P. berghei*, quando tratados com lipopolissacarídeos bacterianos ou com hidrocortisona, necessitavam de um número maior de ciclos de infecção e cura para se tornarem imunes ao *P. berghei*, se comparados ao grupo controle. O tratamento dos camundongos C57BL/10ScN com hidrocortisona suprimia completamente a sobrevivência subsequente a ciclos de infecção com *P. berghei*, assim como interferia negativamente na resposta clínica ao Fansidar (sulfadoxina associada a pirimetamina) (Ferraroni *et al.*, 1986).

van Zon *et al.* (1985) observaram que o uso de tetracosactrin, um análogo do ACTH, induzia aumento dose-dependente dos níveis de corticosteróides no plasma, quando administrado a camundongos com imunidade estabelecida ao *P. berghei*. Essa elevação dos níveis de corticosteróides se correlacionava à perda de imunidade contra este parasita da malária, sendo que tais níveis eram da mesma magnitude daqueles registrados em camundongos que perdiam a imunidade durante a gravidez. Tais autores concluíram que a função efetora da imunidade à malária é sensível aos corticosteróides, e que, pelo menos durante a gravidez, o nível de corticosteróide, que ocorre fisiologicamente, parece representar um importante regulador da imunidade à malária.

Estudo realizado no Quênia, envolvendo mulheres sob condições holoendêmicas de malária, registrou elevada prevalência de clínica de malária durante a gravidez. Havia, também, taxa e densidade

parasitárias mais altas em primíparas, se comparadas às múltiparas. Observou-se, ainda, concentração mais elevada de cortisol em mulheres com malária patente durante a gravidez. Nessas pacientes, os níveis de cortisol eram mais altos antes, durante e após o episódio de malária. Segundo os autores, tais resultados sustentam uma relação causal entre cortisol e infecção, ou seja, os glicocorticóides parecem ser um dos fatores que regulam a imunidade à malária (Vleugels *et al.*, 1989).

A partir de estudo com o uso de dexametasona em pacientes com malária cerebral, observou-se uma piora clínica, ou seja, apresentaram aumento do período de coma, quando comparados ao grupo placebo. Porém, não houve diferenças significativas em relação à taxa de mortalidade (Warrel *et al.*, 1982). Outros autores observaram que o uso de dexametasona em altas doses não foi efetivo na malária cerebral (Hoffman *et al.*, 1988).

2.4 DEHIDROEPIANDROSTERONA (DHEA)

O DHEA e seu sulfato, o DHEA-S, são produtos da camada reticular da córtex adrenal, e constituem-se nos mais abundantes andrógenos adrenais em circulação. O papel exato do DHEA, além de precursor de andrógenos e estrógenos, ainda não está totalmente elucidado, mas, atualmente, tem sido caracterizado seu efeito em melhorar a resposta imune (Ben-Nathan *et al.*, 1992).

Níveis elevados de DHEA e DHEA-S são observados ao nascimento e regridem a valores mínimos que caracterizam a infância até cerca de poucos anos antes do início da função gonadal, quando ascendem, progressivamente, atingindo valores comparáveis aos dos adultos ao final da puberdade. Sofrem ação direta do eixo hipotálamo-hipofisário, apresentando um ritmo circadiano. Contrariamente ao que ocorre na puberdade, registra-se importante redução nos níveis desses andrógenos na velhice (Orentreich *et al.*, 1984).

Com efeito, a síntese protéica é reduzida durante esta fase da vida, diminuindo as massas corporais muscular e óssea, com aumento da gordura. Estas alterações são acompanhadas por um

progressivo declínio na secreção adrenal de DHEA e de seu sulfato (DHEA-S), isto paralelamente ao comprometimento progressivo da função imune (Ben-Nathan *et al.*, 1992). O estudo de reposição de DHEA em homens e mulheres idosos revelou um efeito estimulante sobre a função imune, com aumento na expressão do receptor para IL-2, ou seja, um efeito em especial sobre os linfócitos periféricos (Yen *et al.*, 1995).

No curso de pesquisa, em que se administrou DHEA a camundongos adultos velhos, observou-se reversão de alguns fenômenos típicos dessa fase da vida, refletindo-se em melhora da eficácia da imunização contra a influenza, quando medida pelos títulos de anticorpos, além de resistência à exposição a esses vírus (Danenberg *et al.*, 1995).

Em ratos imunossuprimidos com o uso de dexametasona e infectados com *Cryptosporidium parvum*, observou-se que usando DHEA havia uma resposta exacerbada à conta de células T e B para seus respectivos mitógenos, com potencialização da resposta imune, reduzindo a severidade da infecção. O DHEA, segundo os autores, pode representar uma opção para o tratamento da infecção por *Cryptosporidium sp.* em pacientes sob terapia imunossupressora, ou mesmo naqueles imunodeficientes (Rasmussen *et al.*, 1993). Também se observou que uma única injeção subcutânea de DHEA em camundongos conferia proteção contra encefalite letal por herpes vírus tipo 2 e/ou infecção sistêmica por coxsackie B4 (Loria & Padgett, 1992).

Utilizando-se o DHEA em estudo sobre a citotoxicidade de monócitos induzida por polissacarídeos, observou-se que o primeiro atua em sinergia com estes últimos, no que concerne à liberação de citocinas (IL-1, FNT- α); porém este efeito não foi observado quando o DHEA era utilizado isoladamente (McLachlan *et al.*, 1996). Além disso, observou-se que o DHEA apresenta uma ação bloqueadora sobre a produção do FNT, protegendo os camundongos da ação letal das endotoxinas (Danenberg *et al.*, 1992).

Estudando-se camundongos submetidos à queimadura, a resposta imune celular era reduzida e a produção de citocinas minimizada, uma vez sendo o DHEA administrado após efetuar-se tal experiência.

Uma análise de testes similares da função imune foi desenvolvida a partir de experimento envolvendo camundongos aos quais se administrou um anti-glicocorticóide (RU486). Tanto o DHEA como o RU486 bloquearam os efeitos do tratamento com glicocorticóides sobre a função imune, evidenciando uma atividade anti-glicocorticóide do DHEA. No mesmo estudo concluiu-se, porém, que a atividade anti-glicocorticóide do DHEA não era equivalente à do RU486, já que os efeitos de ativação do gene de glicocorticóides parecem ser menos inibidos pelo DHEA, porque este não se liga ao receptor glicocorticóide, contrariamente ao RU486 que se liga a estes receptores, o que leva à questão se a atividade antiglicocorticóide do DHEA é mediada por mecanismos alternativos (Araneo & Daynes, 1995).

Browne *et al.*(1992), estudando a ação anti-glicocorticóide "in vivo" em camundongos Swiss-Webster, observaram que o DHEA e o DHEA-S inibiam a liberação de enzimas induzidas por glicocorticóides, tanto no nível hepático quanto no renal, sendo esta ação dose e tempo-dependente. Os autores concluíram que o DHEA atua de forma aguda como um anti-glicocorticóide e exerce seu efeito em diferentes sistemas sensíveis aos glicocorticóides.

Parker *et al.*(1985) observaram que pacientes, no curso de doença crônica grave, apresentavam níveis basais séricos de cortisol extremamente aumentados, enquanto que os dos andrógenos adrenais DHEA e DHEA-S eram mais baixos que nos controles normais. A estimulação aguda com ACTH demonstrou que o aumento do cortisol era o mesmo para os indivíduos normais e os com doença severa, porém o aumento agudo das concentrações séricas do DHEA era significativamente menor nos pacientes com doença grave, indicando uma reserva diminuída de DHEA ao estímulo com ACTH.

Esta ativação crônica do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, causando diminuição relativa na produção pelas adrenais dos andrógenos Δ^5 , por seu turno, pode alterar o fenótipo de células T auxiliares em pacientes cronicamente afetados, resultando em uma predominância de células Th2 (Chrousos, 1995).

3 CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS

3.1 PACIENTES

3.1.1 Critérios de inclusão

Pacientes de ambos os sexos, com diagnóstico etiológico confirmado de infecção por *P. falciparum*, com idade variando entre 15 e 50 anos, sem uso de droga anti-malárica por pelo menos 15 dias, com exceção da mefloquina, quando esse período deveria se estender por 63 dias.

3.1.2 Critérios de exclusão

Foram excluídas mulheres gestantes, nutrizas e aquelas em uso de anticoncepcionais. Excluíram-se, também, pacientes em uso de glicocorticóides e outras drogas imunossupressoras, os portadores de outras doenças infecciosas graves e pacientes portadores de malária grave, sendo os critérios de gravidade os mesmos adotados pela Organização Mundial de Saúde (Gilles, 1995). Estes podem ser assim resumidos: hiperparasitemia ($100.000/\text{mm}^3$ de sangue); distúrbios hidroeletrólíticos e ácido- básico que exijam terapia endovenosa; distúrbios de coagulação; edema agudo de pulmão; insuficiência renal aguda (creatinina acima de 3mg/dl , sem melhora com a reidratação; ou volume urinário abaixo de 400ml nas 24 horas); icterícia acentuada (bilirrubina sérica acima de $2\text{mg}\%$), malária cerebral (coma por mais de 6 horas, excluídas outras causas); vômitos incoersíveis interferindo com a medicação oral; anemia (hemoglobina abaixo de 7g/dl); hipertermia acentuada; hipoglicemia (glicose no sangue abaixo de 40mg/dl); colapso circulatório (hipotensão, choque); infecções graves associadas e complicações como sepse e broncopneumonia por aspiração. Foi considerado grave todo paciente que apresentasse um ou mais destes critérios.

3.1.3 Aspectos epidemiológicos e clínicos

Foram estudados 24 pacientes portadores de malária por *P. falciparum*: 6 do sexo feminino e 18 do sexo masculino, sendo 12 pacientes primoinfectados e 12 multiinfectados (paciente com história de mais de um episódio de malária), todos provenientes de áreas endêmicas da Amazônica. Os pacientes foram atendidos no ambulatório de malária do Instituto Evandro Chagas (IEC), Belém-Pará-Brasil, a que vieram espontaneamente, pela suspeita de estarem com a infecção. No primeiro atendimento era preenchida uma ficha (utilizada rotineiramente no Programa de Malária do IEC) com os dados epidemiológicos e clínicos do paciente (Anexo1), sendo tal ficha também utilizada para o seguimento do caso. Os pacientes compareciam diariamente ao IEC, tendo em vista a realização de lâmina para hemoparasitoscopia, avaliação clínica e receber a medicação, até apresentarem parasitoscopia negativa por dois dias seguidos, quando eram liberados, devendo retornar ao IEC no oitavo dia de acompanhamento, para realização de nova hemoscopia. Após, deveriam retornar ao IEC a cada sete dias para realização de hemoscopia para avaliar a sensibilidade ao tratamento, sendo este acompanhamento feito até o 36º dia de acompanhamento, que é o período que em média ocorrem as recrudescência (parasitemia volta a se tornar positiva em sangue periférico sem que o paciente tenha retornado à área de transmissão, caracterizando uma resistência tipo 1) do *P. falciparum* (FNS, 1996). Todos os pacientes receberam tratamento anti-malárico, determinado de acordo com a gravidade da doença. Os sintomas foram graduados de 0 a 4 conforme sua intensidade (0= ausentes, 1= leves, 2= moderados, 3= severos, 4= muito severos).

3.2 COLETA DE MATERIAL

Foram coletadas três amostras de sangue de 10 mL, a cada 20 minutos, sem aditivos, com prévia autorização do paciente (Anexo II), nos dias D0 (pré-tratamento), D1 (2º dia de acompanhamento) e D7 (8º dia de acompanhamento). Estes dias foram escolhidos porque: em D0 o paciente ainda não está fazendo

uso de medicação; em D1, o paciente já apresenta uma melhora da sintomatologia; e em D7, o paciente se encontra assintomático, com parasitemia negativa. A coleta de sangue, para um mesmo paciente, foi feita nos três dias, sempre que possível no mesmo horário, com uma tolerância de uma hora, antes ou depois, devido ao ritmo circadiano do cortisol e do DHEA. As amostras de sangue foram centrifugadas e os soros foram congelados a -20°C , em tubos de "Eppendorf" para dosagem de cortisol, DHEA e anticorpos, sendo que estas dosagens só puderam ser feitas 6 a 17 meses após a coleta.

3.3 EXAME PARASITOLÓGICO

O exame parasitológico foi feito através da técnica da gota espessa. Após punção digital, coloca-se uma gota espessa de sangue em um dos extremos da lâmina de vidro, colhe-se uma segunda gota e deposita-se no centro da lâmina que servirá como gota de identificação. Utilizando a borda de outra lâmina se estende o sangue da primeira gota de modo a formar um quadrado ou um retângulo de tamanho e larguras apropriados (aproximadamente 1,5 por 1,2 cm). Após secar a lâmina, é realizada coloração pela técnica de Walker. Quando da leitura, o microscopista conta, separadamente, as formas assexuadas e sexuadas, porque só as primeiras são responsáveis pelo quadro clínico. A contagem é feita em cada campo microscópico, até que se tenha lido 100 deles, sendo o valor encontrado multiplicado por cinco, para obter-se o valor de formas assexuadas e sexuadas em cada mm^3 de sangue. Faz-se a multiplicação por cinco porque, em uma gota espessa bem preparada, cada 100 campos corresponde a um volume de $0,2 \text{ mm}^3$ de sangue (López-Antuñano, 1988).

3.4 DOSAGEM DO CORTISOL

As dosagens de cortisol foram feitas nos dias D0, D1 e D7, em três coletas diárias, uma a cada 20 minutos, todas em soros em duplicata, tendo sido considerado como resultado a média dos três tempos.

Utilizaram-se "kits" da AutoDELFIA™ Wallac Oy, que se destinam à dosagem de cortisol em soro e urina de humanos, utilizando um sistema imunoensaio automático, o 1235 AutoDELFIA™. Este ensaio é fluorimétrico, em fase sólida, baseado na reação competitiva entre o cortisol marcado pelo európio e o cortisol presente na amostra de soro, limitada por uma quantidade de sítios ligantes específicos para o cortisol e anticorpos monoclonais (provenientes de camundongos). O uso do danazol e ácido tricloroacético neutralizado no tampão do ensaio de cortisol facilita a liberação do cortisol de proteínas ligantes. Assim, o ensaio determina a quantidade de cortisol total no teste. A streptavidina, produzida pela bactéria *Streptomyces avidinii*, está presente na fase sólida e liga os anticorpos marcados pela biotina, dando separação conveniente dos antígenos ligados aos anticorpos, dos antígenos livres.

A solução amplificadora dissocia íons európio do cortisol marcado dentro da solução, em que eles formam quelatos altamente fluorescentes com componentes desta solução. A fluorescência em cada lote é medida no fluorímetro, sendo inversamente proporcional à quantidade de cortisol na amostra (Soini & Kojola, 1983; Hemilä *et al.*, 1984; Lövgren *et al.*, 1984; Eskola *et al.*, 1985).

Os coeficientes de variação intra-ensaio e inter-ensaio foram inferiores a 6%. Os valores de referência são os seguintes: manhã (8,85 a 26,4µg/dL, com um valor médio de 16,0µg/dL); tarde (4,0 a 15,2µg/dL, com um valor médio de 8,48µg/dL) (IFCC, EPVT, 1983).

3.5 DOSAGEM DO DHEA

As dosagens de DHEA foram feitas apenas nos dias D0 e D7 devido à falta de soro para a análise. Todas foram feitas em soros em duplicata, utilizando-se como resultado a média dos dois soros. Utilizou-se para as dosagens "kit" da Diagnostic Systems Laboratories, Inc. Texas – USA, o Active DHEA DSL-9000. O princípio do procedimento baseia-se no fundamento do radioimunoensaio, no qual existe uma

competição entre um antígeno radioativo e um não-radioativo para um número fixado de sítios ligantes de anticorpos (Yalow & Berson, 1971). A quantidade de DHEA marcada com I-125 que se liga ao anticorpo é inversamente proporcional à concentração de DHEA presente no soro. A separação do antígeno livre e ligado é alcançada decantando ou aspirando os tubos recobertos de anticorpos. São os seguintes os valores de referência: homens (média: 4,6 ng/mL, variação: 1,4 a 12,5 ng/mL); mulheres (média: 3,0 ng/mL, variação: 0,8 a 10,5 ng/mL).

3.6 DETECÇÃO DE ANTICORPOS PARA *P. FALCIPARUM* E *P. VIVAX*

As dosagens de IgM e IgG anti-*P. falciparum* foram feitas apenas no dia D0, já que estes níveis variam muito lentamente, tendo sido utilizada a técnica da imunofluorescência indireta (Ferreira, 1988) com diluições para IgG até 1/40960, quando necessário; e para IgM foram utilizadas apenas diluições até 1/40. Para a malária por *P. vivax*, procederam-se diluições até 1/320 quando necessário e apenas para IgG.

Para o preparo de antígenos de plasmódio para reações de imunofluorescência indireta, deve-se selecionar pacientes com parasitemias em torno de 3.000 parasitas por mm³ de sangue, dando-se preferência para os casos com formas mais evoluídas do parasita. Retiram-se, aproximadamente, 10 ml de sangue venoso com ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Em seguida, centrifuga-se o sangue a 1.500 rpm durante 10 minutos. Separa-se o plasma, e a "papa" de hemácias deve ser lavada com solução salina tamponada (PBS) – ph 7,2 - a 1.500 rpm, por 10 minutos, num total de cinco vezes. Segue-se a deposição dos antígenos (hemácias lavadas) em lâminas multspot, por meio de pipeta Pasteur. Deixa-se cair uma pequena gota em cada poço, aspirando-se em seguida, deixando apenas uma fina película. A seguir, secam-se as lâminas com antígenos em estufa a 37° C, por 40 minutos, ou em temperatura ambiente por 12 horas. Deve-se embalar as lâminas em papel tipo "flop-post", identificá-las e colocá-las em caixas

plásticas vedadas e, se possível, com sílica para evitar umidade. A seguir, são estocadas a -20°C ou menos ainda. Para o *P. falciparum* há necessidade de cultivo do parasita para que se obtenha a forma madura.

3.7. MÉTODOS ESTATÍSTICOS

3.7.1. Cortisol

Os níveis séricos de cortisol dos dias D0, D1 e D7, como se tratava de amostras pareadas, foram comparados mediante a análise de variância de Friedman, tomando-se como nível de significância o valor de $p \leq 0,05$.

Os níveis de cortisol de D0 e D1 dos pacientes que fizeram uso de sulfato de quinino com tetraciclina foram comparados mediante teste "t" de Student para amostras pareadas, sendo considerado como significativo o valor de $p \leq 0,05$.

3.7.2 DHEA

Os níveis de DHEA dos dias D0 e D7 foram comparados através do teste "t" de Student para amostras pareadas. Tomou-se como nível de significância o valor de $p \leq 0,05$.

3.7.3 Correlações

Utilizando-se o coeficiente de correlação linear de Pearson, tomando-se como nível de significância o valor de $p \leq 0,05$, foram calculadas as seguintes correlações:

- a) níveis de cortisol e DHEA;
- b) níveis de cortisol e temperatura axilar (temperatura no momento da coleta em D0);
- c) níveis de cortisol em D0 e tempo de evolução da doença (TED - tempo decorrido desde o início dos primeiros sintomas até D0);
- d) níveis de cortisol em D7 e tempo de evolução da doença até D7
- e) níveis de cortisol e parasitemia;
- f) níveis de DHEA e TED em D0;
- g) níveis de DHEA e TED em D7
- h) níveis de DHEA e parasitemia;
- i) níveis de DHEA e temperatura axilar;
- j) níveis de temperatura axilar e parasitemia;
- k) níveis de temperatura axilar e TED;
- l) níveis de parasitemia com TED.

Utilizando-se o coeficiente de correlação linear de Spearman, tomando-se como nível de significância o valor de $p \leq 0,05$, foram calculadas as seguintes correlações:

- a) níveis de DHEA e anticorpos IgG anti-*P. falciparum*;
- b) cortisol e anticorpos IgG anti-*P. falciparum*;
- c) TED e anticorpos IgG anti-*P. falciparum*;
- d) passado malárico (número de vezes que o paciente já apresentou malária anteriormente) e anticorpos IgG anti-*P. falciparum*;

e) anticorpos IgG anti-*P. vivax* e anticorpos IgG anti-*P. falciparum*;

f) anticorpos IgG anti-*P. vivax* e passado malárico.

3.7.4 Dados epidemiológicos e clínicos

Estes dados foram analisados através do EPI-INFO, que é um sistema de processamento de texto, banco de dados e estatística para epidemiologia em microcomputadores.

4 RESULTADOS

4.1 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Foram estudados 24 pacientes portadores de malária por *P. falciparum*, sendo 18 do sexo masculino e 6 do feminino, com idade variando de 15 a 47 anos, (média de 28,7 anos). Todos procedentes de áreas endêmicas da Amazônia, 20 pacientes do Estado de Pará, 1 do Amazonas, 2 do Suriname e 1 da Guiana Francesa. Desses pacientes, 12 eram primoinfectados e 12 multi-infectados.

Os primoinfectados haviam adquirido infecção em área endêmica por estarem trabalhando nestas áreas ou por haverem migrado para fixar residência. Alguns já residiam na localidade há vários anos, porém nunca haviam adquirido a infecção. Os multi-infectados residiam na área, exercendo atividades principalmente de garimpo ou eram comerciantes. A Tabela 1 apresenta dados sobre o passado malárico dos indivíduos sob estudo.

Tabela 1. Passado malárico dos 24 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis séricos de cortisol e DHEA, IEC, Belém-Pará, 1996.

Passado malárico*	Frequência		
	Simples absoluta	Relativa simples (%)	Relativa cumulada (%)
0...	10	50,0	50,0
1...	3	12,5	62,5
2...	1	4,2	66,7
3...	1	4,2	70,8
4...	2	8,3	79,2
5...	1	4,2	83,3
6...	1	4,2	87,5
10...	3	12,5	100,0
Total	24	100,0	

*Número de vezes que teve malária anteriormente

Fonte: dados primários

4.2 DADOS CLÍNICOS

Os sintomas e sinais observados no período pré-tratamento (D0) foram os seguintes: febre, calafrio, cefaléia, artralgia, diarreia, eructação, flatulência, hepatomegalia, esplenomegalia, icterícia, insônia, lombalgia, mialgia, náuseas, vômitos, palidez, prurido, surdez, tonteira, zumbidos, astenia, anorexia, colúria, dispnéia e epigastralgia. Os mais freqüentes encontram-se na Tabela 2, distribuídos de acordo com o grau de intensidade, conforme informação do paciente acerca do ocorrido nas 24 horas do dia. Dos pacientes estudados, 13 apresentavam hepatomegalia de grau leve e 18, esplenomegalia, 12 de grau leve e 6 moderado. Todos os pacientes apresentavam sintomatologia, sendo que quatro deles, que eram multi-infectados, apresentavam queixas mais brandas, referindo sintomas de grau leve a moderado, sendo que

três relatavam não ter apresentado febre no pré-tratamento e referiam 1, 2 e 10 episódios anteriores da infecção. As Tabelas 2 e 3 apresentam os dados referentes à frequência e intensidade dos sintomas e sinais em D0 e D1 respectivamente.

Tabela 2. Frequência e intensidade dos sintomas e sinais observados no período pré-tratamento de 24 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis séricos de cortisol e DHEA, IEC, Belém-Pará, 1996.

Sintomas e sinais	Frequência (%) de pacientes por intensidade de sintoma e sinal					Total
	Ausente	Leve	Moderado	Severo	Muito severo	
Febre.....	12,5	8,3	4,2	25,0	50,0	100,0
Calafrio.....	37,5	4,2	16,7	16,7	25,06	100,0
Cefaléia.....	25,0	16,7	16,7	12,5	29,2	100,0
Artralgia.....	45,8	4,2	20,8	25,0	4,2	100,0
Mialgia.....	50,0	8,3	12,5	20,8	8,3	100,0
Anorexia....	8,3	0,0	20,8	29,2	41,7	100,0
Astenia.....	0,0	12,5	16,7	37,5	33,3	100,0
Lombalgia...	20,8	16,7	41,7	16,7	4,2	100,0
Palidez.....	50,0	25,0	12,5	12,5	0,0	100,0
Tontura.....	25,0	25,0	33,3	12,5	4,2	100,0
Náuseas.....	37,5	20,8	8,3	29,2	4,2	100,0
Epigastralgia.	20,8	20,8	33,3	20,8	4,2	100,0

Fonte: dados primários

Tabela 3. Freqüência e intensidade dos sintomas e sinais observados em D1 de 24 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém-Pará, 1996.

Sintomas e sinais	Freqüência (%) de pacientes por intensidade de sintoma e sinal					Total
	Ausente	Leve	Moderado	Severo	Muito severo	
Febre.....	66,6	12,5	4,2	0,0	16,7	100,0
Calafrio.....	66,6	20,8	4,2	0,0	8,3	100,0
Cefaléia.....	62,5	12,5	0,0	12,5	12,5	100,0
Artralgia.....	62,5	16,7	8,3	4,2	4,2	100,0
Mialgia.....	58,0	8,3	20,8	8,3	4,2	100,0
Anorexia....	12,5	8,3	12,5	41,7	25,0	100,0
Astenia.....	8,3	20,8	16,7	33,3	20,8	100,0
Lombalgia...	45,8	25,0	20,8	0,0	8,3	100,0
Palidez.....	58,0	20,8	16,7	4,2	0,0	100,0
Tontura.....	41,7	16,7	25,0	4,2	12,5	100,0
Náuseas.....	37,5	33,3	8,3	8,3	12,5	100,0
Epigastralgia.	33,3	37,5	25,0	0,0	4,2	100,0

Fonte: dados primários

4.3 NÍVEIS DE PARASITEMIA ASSEXUADA

A parasitemia assexuada foi avaliada diariamente, até que o paciente apresentasse duas lâminas negativas em dias consecutivos. Os dados referentes à parasitemia encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4. Parasitemia assexuada em D0, D1, D2, D3 e D4 dos 24 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém – Pará, 1996.

Dia	Parasitemia / mm ³			Desvio padrão
	Média geométrica	Amplitude		
		Mínima	Máxima	
D0.....	5.396,49	100	75.000	4,482
D1.....	1.484,44	25	22.500	5,622
D2.....	49,09	0	65.000	25,000
D3.....	7,13	0	3.500	13,900
D4.....	1,88	0	250	4,530

Fonte: dados primários.

Em D5, todas as parasitemias avaliadas haviam negativado. Os dados referentes à velocidade de negatificação encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5. Velocidade de negatização da parasitemia assexuada de 22 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém – Pará, 1996.

Dia	Frequência		
	Simple absoluta	Simple relativa (%)	Relativa acumulada (%)
D0.....	0	0,0	0,0
D1.....	0	0,0	0,0
D2	7	31,8	31,8
D3	7	31,8	63,6
D4	6	27,3	90,9
D5	2	9,1	100,0
Total*.....	22	100,0	

*Dois pacientes em D5 e D6 faltaram à consulta, portanto não foram submetidos ao exame; porém já estavam negativos em D7.

Fonte: dados primários.

4.4 ESQUEMAS TERAPÊUTICOS

Foram utilizados os seguintes esquemas:

- sulfato de quinino 1g, duas vezes ao dia por 3 dias + tetraciclina 500 mg, 3 vezes ao dia por 7 dias;
- sulfato de quinino 500 mg, 3 vezes ao dia por 3 dias + tetraciclina 500 mg, três vezes ao dia por 5 dias;
- sulfato de quinino 500 mg, 3 vezes ao dia por 3 dias + clindamicina 600 mg, duas vezes ao dia por 5 dias;
- sulfato de quinino 1g, duas vezes ao dia por 1 dia + 500 mg, 3 vezes ao dia por 7 dias;
- artemeter 80 mg, duas vezes ao dia por 1 dia + 80 mg, 1 vez ao dia por 4 dias;

- f) artesunato V.O. 50 mg, duas vezes ao dia por 3 dias + tetraciclina 500 mg, 3 vezes ao dia por 7 dias;
- g) artemeter 80 mg, duas vezes ao dia por 1 dia + 80 mg por 1 dia + tetraciclina 500 mg, 3 vezes ao dia por 7 dias.

Dezesseete pacientes foram tratados com o esquema (a), um com o (b), um com o (c), um com o (d), dois com o (e), um com o (f) e um com o (g). Os esquemas foram escolhidos de acordo com o nível de parasitemia e estado geral do paciente e, sempre que possível, foi utilizado sulfato de quinino associado à tetraciclina. Em pacientes com parasitemia acima de 10.000 / mm³ e estado geral comprometido, optou-se pelo uso dos derivados da artemisinina. Os quatro pacientes que fizeram uso destes derivados negatvaram todos em D3.

Apenas 11 pacientes completaram o controle até o 36º dia de acompanhamento, sendo todos sensíveis ao tratamento. Destes, 9 (81,8 %) utilizaram sulfato de quinino como esquizonticida sangüíneo rápido. O restante dos pacientes, pelo fato de não terem completado o controle, ou foram sensíveis ao tratamento ou apresentaram resistência tipo 1 (ocorre negatvização da parasitemia, porém torna-se positiva antes do 36º de acompanhamento).

4.5 NÍVEIS DE IgM e IgG

Foram dosados anticorpos IgM e IgG anti- *P. falciparum* e anticorpos IgG anti- *P. vivax*, isto porque a maioria dos pacientes que já havia apresentado mais de um episódio de malária não sabia referir a espécie de plasmódio responsável pela infecção. Para IgM, realizada apenas para *P. falciparum*, foram efetuadas diluições até 1/40, com o objetivo de avaliar somente a sua positividade. Para IgG anti-*P. vivax*, diluiu-se até 1/320, quando necessário; e para IgG anti- *P.falciparum* as diluições alcançaram até 1/40.960. Calcularam-se as correlações entre os níveis de anticorpos IgG anti-*P.falciparum* e passado malárico (número de episódios anteriores de malária) e níveis de anticorpos IgG anti-*P.falciparum* e tempo de evolução da doença (TED – tempo decorrido desde o início dos primeiros sintomas até a data da primeira

consulta). Obtiveram-se os seguintes resultados: anticorpos e TED foi não-significativo ($r_s = 0,289$, $p > 0,05$); anticorpos e passado malárico foi significativo ($r_s = 0,467$, $p < 0,05$).

As correlações anticorpos IgG anti-*P. vivax* e anti-*P. falciparum* e anticorpos IgG anti-*P. vivax* e passado malárico foram calculadas obtendo-se os seguintes resultados: anticorpos *P. vivax* e anticorpos *P. falciparum* foi altamente significativo ($r_s = 0,673$, $p < 0,01$); anticorpos anti-*P. vivax* e passado malárico foi significativo ($r_s = 0,463$; $p < 0,05$).

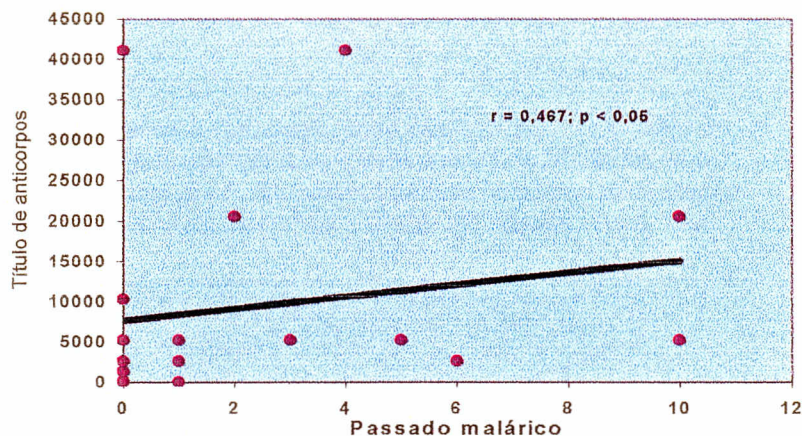
Os dados referentes ao passado malárico, TED e níveis de anticorpos encontram-se na Tabela 6. Os Gráficos 1, 2 e 3 mostram as correlações significantes. Para melhor visualização dos dados, os valores dos níveis de anticorpos foram transformados, no Gráfico 2, para log neperiano (Ln).

Tabela 6. Passado malárico, tempo de evolução da doença e níveis de anticorpos IgM anti-*P. falciparum* e IgG anti-*P. falciparum* e anti-*P. vivax*, pré-tratamento, referentes aos 24 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém – Pará, 1996.

Paciente	Número de episódios de malária	TED (dias)	Anticorpos totais		
			IgM (anti- <i>P. falciparum</i>)	IgG (anti- <i>P. falciparum</i>)	IgG (anti- <i>P. vivax</i>)
1.....	10	2	40	20.480	320
2.....	0	20	40	5.120	160
3.....	0	3	0	1.280	40
4.....	0	11	40	2.560	40
5.....	1	6	0	0	0
6.....	0	4	0	0	0
7.....	0	1	0	80	40
8.....	3	2	40	5.120	320
9.....	0	1	0	0	0
10.....	2	15	0	20.480	160
11.....	10	22	40	5.120	320
12.....	0	13	40	10.240	160
13.....	0	4	0	0	0
14.....	10	5	0	5.120	320
15.....	0	10	40	5.120	320
16.....	0	8	0	5.120	320
17.....	4	5	40	40.960	160
18.....	0	8	40	1.280	0
19.....	1	3	40	2.560	320
20.....	6	4	40	2.560	0
21.....	1	11	40	5.120	40
22.....	5	3	0	5.120	40
23.....	4	2	0	40.960	320
24.....	0	8	40	40.960	40

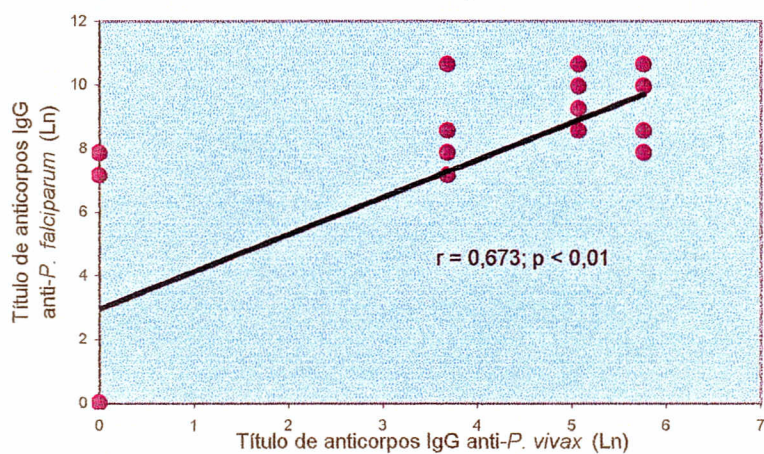
Fonte: dados primários

Gráfico 1. Correlação entre passado malárico e títulos de anticorpos totais anti-*P. falciparum* de 24 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - PA, 1996.



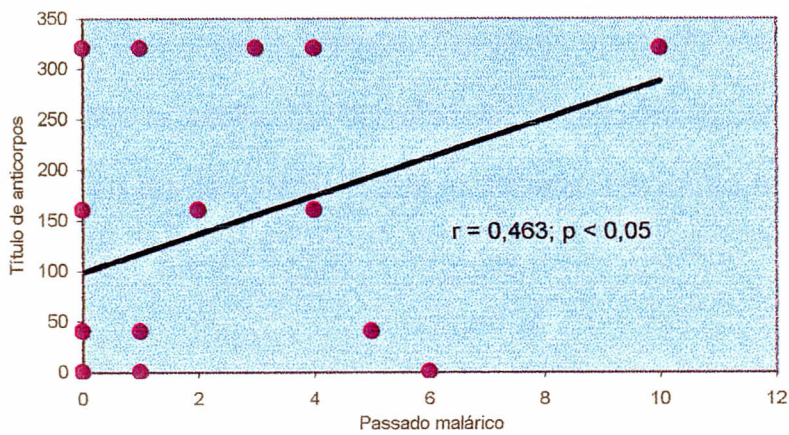
Fonte: dados primários

Gráfico 2: Correlação entre títulos de anticorpos IgG anti-*P. vivax* e títulos de anticorpos IgG anti-*P. falciparum* em D0 de 24 pacientes de malária por *P. falciparum*, incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - Pará, 1996.



Fonte: dados primários

Gráfico 3: Correlação entre passado malárico e títulos de anticorpos IgG anti-*P. vivax* em D0 de 24 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC; Belém - Pará, 1996.



Fonte: dados primários

4.6 NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL EM D0, D1 E D7

Na comparação dos níveis de cortisol dos três dias, obtiveram-se os seguintes resultados: Friedman (χ^2) = 30,17; $p < 0,0001$ (altamente significativo); diferença entre D0 e D1 = 15,5; $p < 0,05$ (significativo), D0 e D7 = 35,5; $p < 0,01$ (altamente significativo), D1 e D7 = 20; $p < 0,01$ (altamente significativo). Compararam-se os níveis de cortisol entre D0 e D1, de 18 pacientes que fizeram uso de sulfato de quinino e tetraciclina, para avaliar se o esquema terapêutico interferia nestes níveis. Para este cálculo foi utilizado o teste "t" de Student para amostras pareadas, obtendo-se o seguinte resultado: $t = 2,373$; $p = 0,03$ (significativo). O esquema terapêutico não foi avaliado em D7, pelo fato de que neste dia os pacientes não se encontravam mais em uso de qualquer medicação. Os valores de cortisol e turno de coleta encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7. Níveis séricos de cortisol em D0, D1 e D7 e turno de coleta de 24 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de Cortisol e DHEA, IEC, Belém - Pará, 1996.

Paciente	Turno de coleta	Cortisol µg/dL		
		D0	D1	D7
1*.....	Tarde	17,67	7,90	8,30
2*.....	Manhã	27,00	20,67	17,00
3*.....	Manhã	14,33	12,67	7,57
4*.....	Manhã	12,33	13,00	8,10
5*.....	Tarde	21,00	20,00	10,67
6*.....	Manhã	14,00	11,67	11,67
7.....	Tarde	26,67	26,00	—
8*....	Tarde	28,67	18,00	13,33
9....	Tarde	19,67	15,00	15,33
10....	Manhã	11,33	13,67	8,97
11*....	Manhã	12,00	13,00	9,97
12*....	Manhã	26,67	26,33	10,67
13*.....	Tarde	15,67	32,00	6,33
14*.....	Tarde	15,00	13,00	—
15*.....	Tarde	14,00	11,07	7,60
16*.....	Tarde	20,00	14,00	10,33
17.....	Tarde	21,33	14,33	9,43
18*.....	Manhã	29,67	27,67	12,00
19.....	Manhã	31,33	12,00	—
20*.....	Manhã	37,67	17,67	9,17
21.....	Tarde	22,67	15,67	8,90
22*.....	Manhã	22,67	16,33	10,20
23*.....	Manhã	51,00	37,00	12,00
24*.....	Tarde	26,33	17,67	15,00
Média**±DP		22,18±9,26	17,89±7,2	10,59±2,8

Os pacientes 7, 14 e 19 não participaram do cálculo porque não colheram em D7.

* Pacientes que fizeram uso de sulfato de quinino + tetraciclina.

**As médias são referentes aos 21 pacientes que completaram o estudo.

Fonte: dados primários.

4.7 NÍVEIS SÉRICOS DE DHEA EM D0 E D7

Os níveis de DHEA em D0 e D7 foram dosados em 16 pacientes. Na comparação destes níveis, obtiveram-se os seguintes valores: $t = 2,829$; $p = 0,013$ (significativo). Os valores de DHEA em D0 e D7 encontram-se na Tabela 8. Compararam-se estes níveis para avaliar o comportamento no pré-tratamento e após a cura clínica da doença. Não houve diferença significativa dos níveis de DHEA entre os dois sexos.

Tabela 8. Sexo e níveis séricos de DHEA em D0 e D7 de 16 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém – Pará, 1996.

Paciente	Sexo	DHEA ng/mL	
		D0	D7
1.....	F	4,29	3,95
4.....	F	2,07	3,28
5.....	F	7,54	3,65
6.....	F	3,99	3,23
8.....	M	6,80	5,51
9.....	M	8,44	6,93
10.....	M	3,98	2,20
12.....	M	4,57	2,27
16.....	M	4,41	4,66
17.....	M	4,79	4,97
18.....	M	3,45	3,50
20.....	M	7,65	3,24
21.....	F	7,33	2,98
22.....	F	6,37	6,90
23.....	M	9,43	2,08
24....	M	14,56	3,64
Média±DP		6,23±3,02	3,94±1,5

Fonte: dados primários.

4.8. CORRELAÇÃO ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL E PARASITEMIA

Foi avaliada a correlação entre os níveis séricos de cortisol e a parasitemia nos dias D0 e D1, obtendo-se os seguintes resultados: correlação cortisol D0 e parasitemia D0 ($r = 0,0754$; $p = 0,726$), cortisol D1 e parasitemia D1 ($r = 0,4634$; $p = 0,023$); cortisol D0 e parasitemia D1 ($r = 0,625$; $p = 0,001$). A correlação entre os níveis séricos de cortisol e parasitemia em D1, dos 18 pacientes que fizeram uso de sulfato de quinino e tetraciclina, foi calculada separadamente, para avaliar se o esquema terapêutico com os derivados da artemisinina estava interferindo no referido cálculo. Obtiveram-se os seguintes resultados: cortisol D1 e parasitemia D1 ($r = 0,518$; $p = 0,028$); cortisol D0 e parasitemia D1 ($r = 0,686$; $p = 0,002$). Não foram calculadas correlações entre os níveis de cortisol e parasitemia em D7, pelo fato de todos os pacientes já estarem negativos neste dia. Os valores do cortisol e das parasitemias encontram-se na Tabela 9 e as correlações referentes ao grupo total de pacientes, que foram significantes, nos Gráficos 4 e

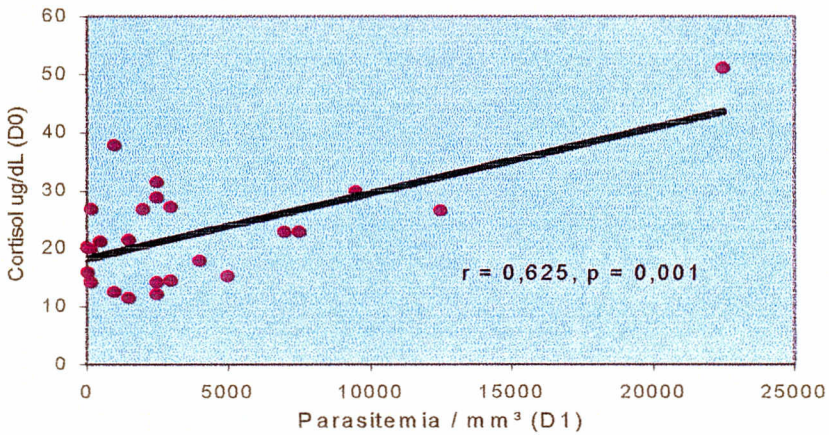
Tabela 9. Níveis de cortisol e parasitemia assexuada em D0 e D1 dos 24 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém – Pará, 1996.

Paciente	D0		D1	
	Cortisol $\mu\text{g} / \text{dL}$	Parasitemia / mm^3	Cortisol $\mu\text{g} / \text{dL}$	Parasitemia / mm^3
1*.....	17,67	8.000	7,90	4.000
2*.....	27,00	2.500	20,67	3.000
3*.....	14,33	75.000	12,67	3.000
4*.....	12,33	4.000	13,00	1.000
5*.....	21,00	7.000	20,00	500
6*.....	14,00	500	11,67	2.500
7.....	26,67	60.000	26,00	175
8*.....	28,67	5.000	18,00	2.500
9.....	19,67	5.000	15,00	150
10.....	11,33	1.500	13,67	1.500
11*.....	12,00	5.000	13,00	2.500
12*.....	26,67	6.000	26,33	2.000
13*.....	15,67	12.500	32,00	60
14*.....	15,00	2.500	13,00	5.000
15*.....	14,00	1.000	11,07	150
16*.....	20,00	100	14,00	25
17.....	21,33	20.000	14,33	1.500
18*.....	29,67	8.000	27,67	9.500
19.....	31,33	10.000	12,00	2.500
20*.....	37,67	2.000	17,67	1.000
21.....	22,67	50.000	15,67	7.500
22*.....	22,67	6.000	16,33	7.000
23*.....	51,00	25.000	37,00	22.500
24*.....	26,33	3.500	17,67	12.500

*Pacientes que fizeram uso de sulfato de quinino e tetraciclina.

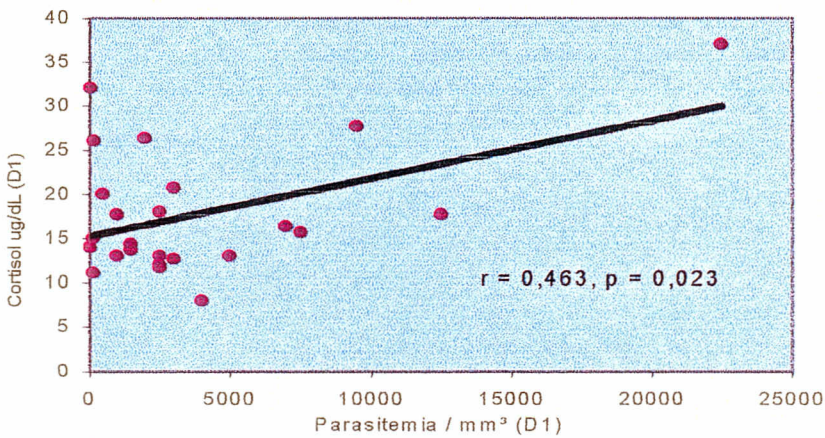
Fonte: dados primários.

Gráfico 4. Correlação entre níveis séricos de cortisol em D0 e parasitemia em D1 de 24 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis séricos de cortisol e DHEA, IEC, Belém - PA, 1996



Fonte: dados primários

Gráfico 5. Correlação entre níveis séricos de cortisol em D1 e parasitemia em D1 de 24 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis séricos de cortisol e DHEA, IEC, Belém - PA, 1996

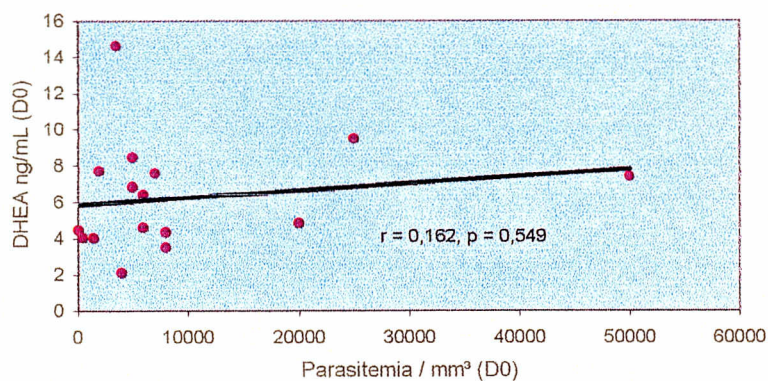


Fonte: dados primários

4.9. CORRELAÇÃO ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE DHEA E PARASITEMIA

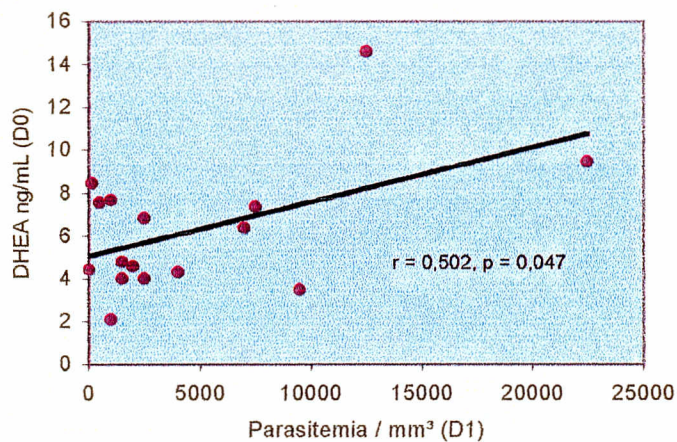
Calculou-se esta correlação para avaliar se os níveis séricos de DHEA influenciavam negativamente os níveis de parasitemia, obtendo-se os seguintes resultados: DHEA em D0 e parasitemia em D0 ($r = 0,162$; $p = 0,549$); DHEA em D0 e parasitemia em D1 ($r = 0,502$; $p = 0,047$). As correlações encontram-se nos Gráficos 6 e 7.

Gráfico 6. Correlação entre níveis de parasitemia assexuada e DHEA em D0 de 16 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis séricos de cortisol e DHEA, IEC, Belém -Pará, 1996



Fonte: dados primários

Gráfico 7. Correlação entre níveis de parasitemia assexuada em D1 e DHEA em D0 de 16 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis séricos de cortisol e DHEA, IEC, Belém - Pará, 1996.

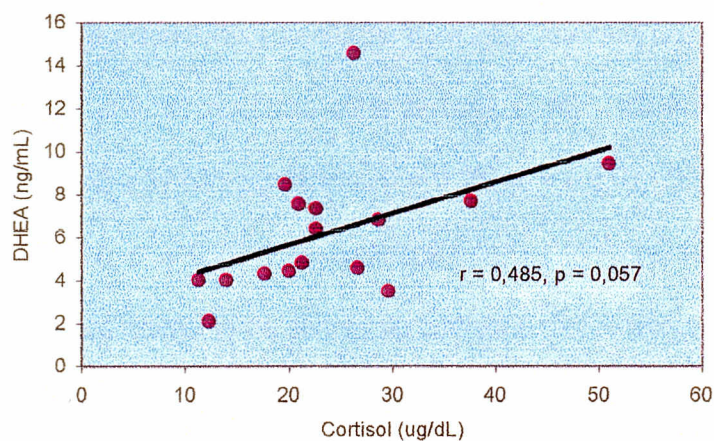


Fonte: dados primários

4.10 CORRELAÇÃO ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL E DHEA

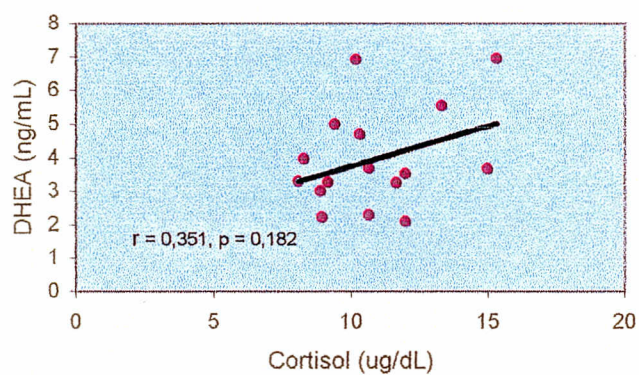
Calcularam-se as correlações dos níveis de cortisol e DHEA em D0 e D7, para avaliar se os níveis de DHEA acompanhavam os níveis de cortisol, obtendo-se os seguintes resultados: cortisol e DHEA em D0 ($r = 0,485$, $p = 0,057$); cortisol e DHEA em D7 ($r = 0,351$, $p = 0,182$). O Gráfico 8 e 9 mostram as correlações entre cortisol e DHEA em D0 e D7.

Gráfico 8. Correlação entre níveis séricos de cortisol e DHEA em D0 de 16 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis séricos cortisol e DHEA, IEC, Belém - Pará, 1996.



Fonte: dados primários

Gráfico 9. Correlação entre níveis séricos de cortisol e DHEA em D7 de 16 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo dos níveis séricos de cortisol e DHEA, IEC, Belém - PA, 1996.



Fonte: dados primários

4.11 CORRELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL, DHEA E TEMPERATURA AXILAR NO MOMENTO DA COLETA NO PRÉ-TRATAMENTO.

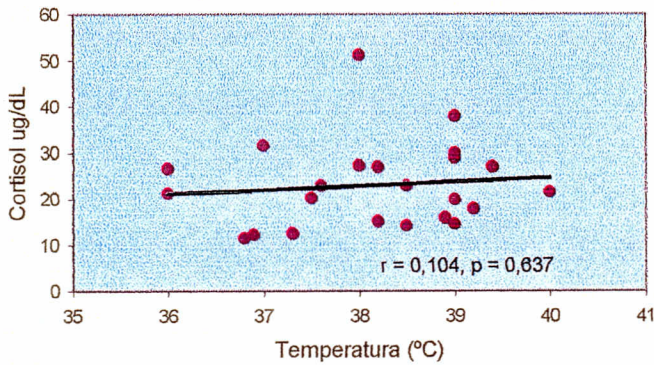
Foi calculada a correlação entre os níveis de cortisol e temperatura axilar, níveis de DHEA e temperatura axilar, assim como a correlação parcial entre estas três variáveis. Estes cálculos foram realizados para avaliar se a intensidade da temperatura axilar interferia nos níveis de cortisol e DHEA, e se uma das variáveis interferia na correlação entre as duas outras. Obtiveram-se os seguintes resultados: cortisol e temperatura axilar foi não significativo ($r = 0,104$, $p = 0,637$), DHEA e temperatura também não significativo ($r = - 0,312$, $p = 0,257$); na correlação parcial temperatura(X), cortisol(Y) e DHEA(Z), a temperatura interferiu positivamente na correlação cortisol e DHEA ($R_{xy.z} = 0,411$, $p = 0,145$; $R_{xz.y} = - 0,473$ $p = 0,087$; $R_{yz.x} = 0,557$, $p = 0,038$) . Os valores de temperatura axilar no momento da coleta encontram-se na Tabela 10. As correlações entre cortisol e temperatura e DHEA e temperatura, encontram-se nos Gráficos 10 e 11.

Tabela 10. Temperatura axilar no momento da coleta em D0 de 23 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de DHEA e cortisol, IEC, Belém – PA, 1996.

Paciente	Temperatura (°C)
1.....	39,2
2.....	38,0
3.....	39,0
4.....	37,3
5.....	36,0
6.....	—
7.....	39,4
8.....	39,0
9.....	39,0
10.....	36,8
11.....	36,9
12.....	38,2
13.....	38,9
14.....	38,2
15.....	38,5
16.....	37,5
17.....	40,0
18.....	39,0
19.....	37,0
20.....	39,0
21.....	38,5
22.....	37,6
23.....	38,0
24.....	36,0

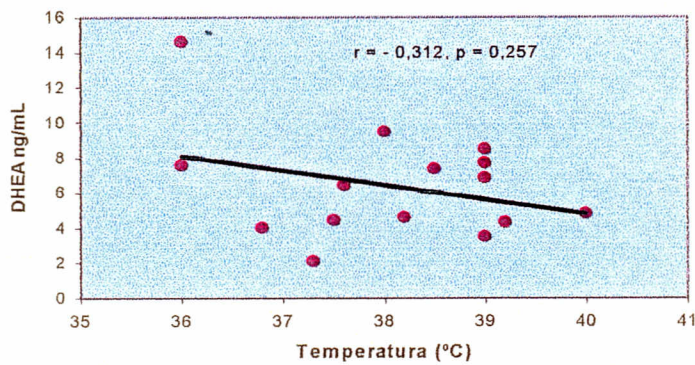
Fonte: dados primários

Gráfico 10. Correlação entre temperatura axilar à hora da coleta e cortisol em D0 de 23 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - Pará, 1996



Fonte: dados primários

Gráfico 11. Correlação entre temperatura axilar à hora da coleta e DHEA em D0 de 15 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - PA, 1996



Fonte: dados primários

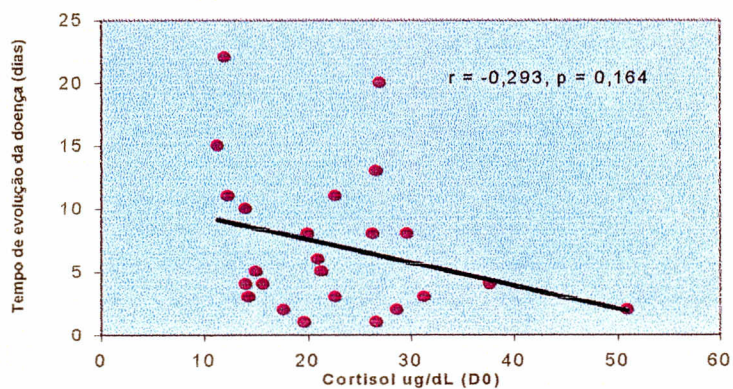
4.12 CORRELAÇÃO ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL, DHEA E ANTICORPOS TOTAIS IgG ANTI-*P. FALCIPARUM* EM D0.

Para estas correlações obtiveram-se os seguintes resultados: cortisol em D0 e anticorpos não significativo ($r_s = 0,135$, $p > 0,05$); DHEA em D0 e anticorpos não significativo ($r_s = 0,182$, $p > 0,05$) e DHEA em D7 e anticorpos não significativo ($r_s = -0,184$, $p > 0,05$). Estes cálculos foram feitos para avaliar se os níveis de cortisol e DHEA interferiam nos níveis de anticorpos.

4.13 CORRELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL, DHEA E TEMPO DE EVOLUÇÃO DA DOENÇA (TED)

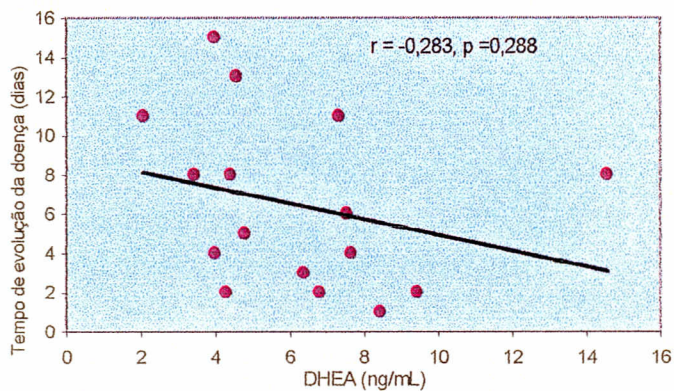
Foram calculados os coeficientes de correlação entre os níveis séricos de cortisol e DHEA em D0 com o TED, e cortisol e DHEA em D7 com o tempo de evolução da doença até D7, com o objetivo de avaliar se o TED interferia nos níveis destes esteróides na malária. Obtiveram-se os seguintes resultados: DHEA D0 e TED não significativo ($r = -0,283$, $p = 0,288$); cortisol D0 e TED não significativo ($r = -0,293$, $p = 0,164$); Cortisol D7 e TED até D7 não significativo ($r = 0,102$; $p = 0,661$) e DHEA D7 e TED até D7 significativo ($r = -0,580$; $p = 0,018$). As correlações cortisol e TED, e DHEA e TED encontram-se nos Gráficos 12, 13, 14 e 15.

Gráfico 12. Correlação entre níveis de cortisol e TED em D0 de 24 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - PA, 1996



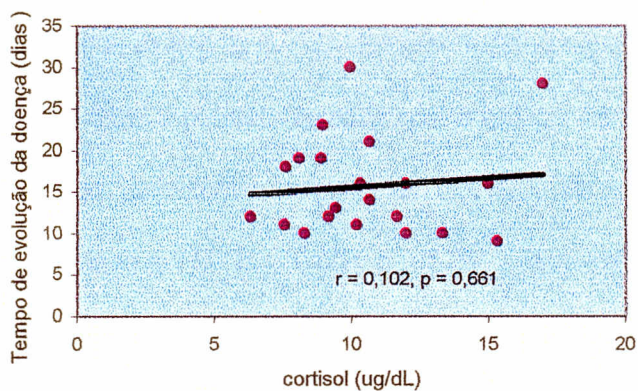
Fonte: dados primários

Gráfico 13. Correlação entre níveis de DHEA e TED em D0 de 16 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - PA, 1996



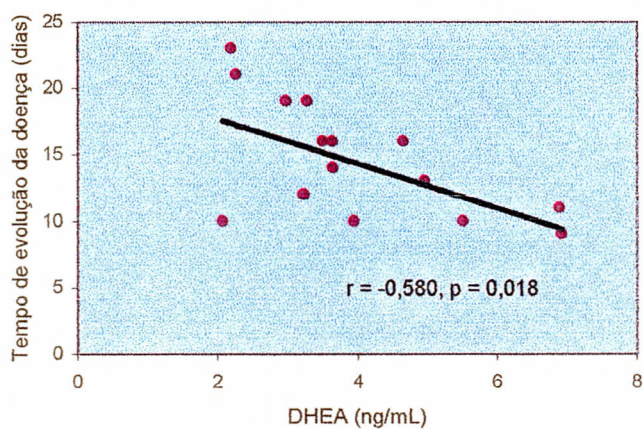
Fonte: dados primários

Gráfico 14. Correlação entre níveis de cortisol e TED em D7 de 21 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - PA, 1996



Fonte: dados primários

Gráfico 15. Correlação entre níveis de DHEA e TED em D7 de 16 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC, Belém - PA, 1996

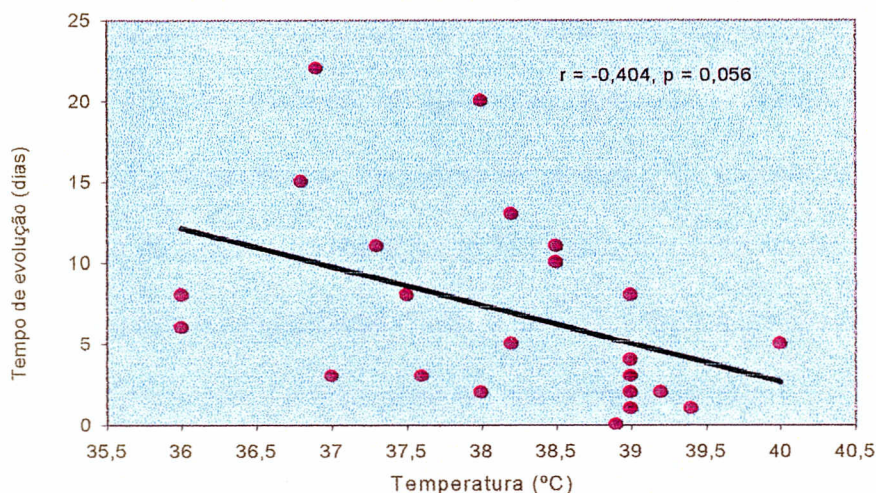


Fonte: dados primários

4.14 CORRELAÇÃO ENTRE TEMPERATURA AXILAR NA HORA DA COLETA, TEMPO DE EVOLUÇÃO DE DOENÇA E PARASITEMIA EM D0.

Calcularam-se estas correlações para avaliar se o nível de parasitemia interferia no nível de temperatura do paciente, avaliar se o TED interferia negativamente na temperatura, ou seja, quanto maior esse período, menos febre o paciente apresentaria, e verificar também se pacientes com maior tempo de evolução apresentariam parasitemias mais baixas. Obtiveram-se os seguintes resultados, sendo todos não significativos: temperatura e TED ($r = -0,404$; $p = 0,056$); temperatura e parasitemia ($r = 0,378$ $p = 0,076$); TED e parasitemia ($r = -0,263$; $p = 0,215$). O Gráfico 16 mostra a correlação entre temperatura e TED. Os resultados referentes a todas as provas estatísticas utilizadas encontram-se no Anexo 3.

Gráfico 16. Correlação entre temperatura axilar à hora da coleta e TED de 23 pacientes de malária por *P. falciparum* incluídos no estudo de avaliação dos níveis de cortisol e DHEA, IEC. Belém - Pará, 1996



Fonte: dados primários

5 DISCUSSÃO

No Brasil, a Região Amazônica concorre com mais de 95 % dos casos de malária. O cortisol e o DHEA são esteróides que têm participação importante na resposta imune, o primeiro, deprimindo esta resposta e o segundo estimulando, daí a proposição para este estudo, uma vez que faltam dados na literatura acerca do comportamento destes esteróides na malária.

Nesta pesquisa, todos os pacientes apresentaram sintomatologia de malária, sendo que os 4 pacientes que apresentaram sintomas de grau leve a moderado eram multi-infectados. Este fato está de acordo com descrições da literatura, ou seja, há uma relação inversa entre número de episódios de malária e a intensidade da sintomatologia (Oliveira & Souza, 1983). Os sintomas mais comuns foram a astenia, anorexia, febre, lombalgia e mialgia, como foi também observado por Oliveira & Souza (1983) em pesquisa realizada com pacientes da Amazônia.

Os pacientes que não apresentaram febre eram multi-infectados, porém, uma paciente, já na segunda infecção, referia não ter apresentado este sintoma. A ausência de febre neste caso pode ser devida à capacidade do hospedeiro em produzir FNT, espontaneamente ou por estímulo direto da toxina do parasita na liberação do FNT pelos monócitos do hospedeiro (Kwiatkowski, 1995). Como exposto por Kwiatkowski (1995), a resposta à febre é um tipo fundamental de mecanismo de defesa do hospedeiro diferente daquele que depende de células T e B, isto porque: a) não requer exposição anterior ou memória imunológica, sendo pois um mecanismo de defesa inato; b) a intensidade de resposta do hospedeiro está relacionada ao nível de parasitemia; c) a ação antiparasitária é imediata e de curta duração. Estas três propriedades são de importância crítica para o hospedeiro e por isto o parasita alcança uma densidade populacional parasitária estável no estágio precoce da infecção em indivíduos primoinfectados.

Nesta pesquisa, no entanto, o nível de parasitemia assexuada foi bastante variável, e tanto o paciente que apresentava a parasitemia mais baixa como o de parasitemia mais elevada eram primoinfectados. Esta variação na parasitemia em dois primoinfectados, provavelmente se deve a fatores como a virulência da cepa do parasita e a resistência inata do hospedeiro.

Os 22 pacientes que foram avaliados diariamente até o sexto dia da doença (D5), apresentaram parasitemias negativas até D5, e todos os 24 pacientes já estavam negativos em D7. Em todos os 11 pacientes avaliados até o 36º dia de acompanhamento (D35), os parasitas foram sensíveis ao tratamento; quanto aos que não foram acompanhados é impossível certificar se os parasitas foram sensíveis ou se apresentaram resistência tipo 1 (ocorre negatificação da parasitemia, porém a mesma recrudescer antes de D35). Dos pacientes que completaram o controle, 9 (81,82 %) utilizaram sulfato de quinino como esquizotocida sanguíneo de ação rápida, demonstrando sua eficácia no tratamento da malária por *P. falciparum*.

Observou-se um baixo índice de IgM positivo (54 %), apesar de todos apresentarem infecção recente por *P. falciparum*, isto provavelmente se deve ao fato destes anticorpos serem de baixa afinidade e apresentarem meia vida mais curta (Spiegelberg, 1974).

A presença de anticorpos costuma ocorrer já nos primeiros dias de patência da parasitemia (parasitemia positiva em sangue periférico), como mostraram Collins *et al.* (1964), porém, 4 pacientes apresentavam IgG e IgM anti-*P. falciparum* negativas mesmo com história de doença entre 4 e 6 dias. Conforme Wahlgren *et al.* (1986), a quantidade total de anticorpos reflete número de exposições ao plasmódio e não está necessariamente ligada a uma resposta imune efetiva, sendo que a qualidade do anticorpo é que confere esta proteção e, além disso, pacientes podem responder com um baixo nível global de anticorpos (Bouharoun-Tayoun & Druilhe, 1992). Portanto, estes resultados estão de acordo o que se tem descrito na literatura. A correlação entre níveis de

anticorpos totais IgG anti-*P. falciparum* e episódios de malária foi significativa, assim, o resultado desta correlação apoia o que já se tem descrito, ou seja, que nível total de anticorpos reflete o número de exposições à malária e não proteção.

Os níveis de IgG anti-*P. vivax* foram positivos em 75 % dos pacientes. Foi calculada a correlação níveis de anticorpos IgG anti-*P. vivax* e anti-*P. falciparum*, a qual foi altamente significativa, portanto esta positividade de IgG anti-*P. vivax* em grande parte provavelmente deve-se a reações cruzadas, já que estas reações são esperadas no sorodiagnóstico da malária (Diggs & Sadun, 1965). Calculou-se, também, a correlação entre IgG anti-*P. vivax* e número de episódios de malária, obtendo-se um resultado significativo, o que pode também explicar esta soropositividade para *P. vivax*, já que os pacientes na Região Amazônica residem onde existem áreas em que tanto a infecção por *P. vivax* como a por *P. falciparum* são possíveis de ocorrer (Marques & Cárdenas Gutierrez, 1994).

Os níveis séricos de cortisol foram dosados em D0, D1 e D7, observando-se média mais elevada em D0, havendo uma diminuição significativa em D1 e uma diminuição altamente significativa em D7. Estes resultados evidenciam um aumento dos níveis de cortisol em portadores de malária por *P. falciparum*, o que demonstra uma estimulação do eixo HPA nestes pacientes, confirmando os achados de Brooks *et al.* (1969) que observaram que a função adrenal estava intacta em pacientes portadores de malária por *P. falciparum*. A ativação deste eixo ocorre na malária devido à liberação de citocinas e em parte pela situação de estresse gerada pela doença, sendo que esta ativação do eixo HPA traduz uma interação dos sistemas neuro-imune-endócrino nestes pacientes. Esta ocorrência tem sido evidenciada em outros estados infecciosos como observaram Cook *et al.* (1992) e Soni *et al.* (1995) em infecções bacterianas severas e choque séptico. Os níveis de cortisol vão decaindo à medida em que se obtém uma melhora clínica e queda da parasitemia, provavelmente devido à menor produção de citocinas. Ringwald *et al.* (1991)

observaram que os níveis de FNT regridem ao normal por volta do oitavo dia após o início do tratamento de malária, estudando uma população de 11 europeus e 5 africanos.

Os níveis de DHEA dosados em D0 e D7 apresentaram uma diferença significativa, sendo a média de D0 significativamente maior em relação à média de D7. No estresse mantido observa-se uma diminuição nos níveis deste esteróide, portanto o esperado seria níveis mais baixos em D0 e mais elevados em D7. Como observaram Parker *et al.* (1985), estudando pacientes em estresse crônico (portadores de doenças infecciosas e não-infecciosas), ocorria um aumento altamente significativo dos níveis basais de cortisol em relação aos controles normais, ao contrário dos níveis basais de DHEA, que estavam diminuídos em relação ao grupo controle sadio, porém não de maneira significativa. Nieschlag *et al.* (1973) observaram que um estímulo crônico com ACTH resultava em concentrações aumentadas de cortisol durante todo o estímulo, ocorrendo, no entanto, um pico inicial do DHEA seguido por diminuição após 2 horas de estímulo.

Foi calculada a correlação entre níveis de cortisol e parasitemia. A correlação entre os níveis de cortisol em D0 e parasitemia em D0 não foi significativa, porém a correlação cortisol D0 e parasitemia em D1 foi altamente significativa, assim como a correlação cortisol D1 e parasitemia D1 também foi significativa. Isto em princípio, leva a admitir que o cortisol deve interferir na resposta inicial à terapêutica de pacientes com malária por *P. falciparum*. Como observaram Ferraroni *et al.* (1986), o tratamento de camundongos com hidrocortisona abolia a capacidade destes murinos em responder à terapêutica à sulfadoxina associada à pirimetamina.

Os glicocorticóides atuam inibindo profundamente funções de células inflamatórias e bloqueiam a imunidade mediada por células por inibirem a proliferação de células T e sua ativação, suprimindo a produção de IL-2, e afetam, também, subgrupos de células T, tais como linfócitos Th1 (Sternberg *et al.*, 1992). Pesquisa de Ballet *et al.* (1987) mostrou que células estimuladas por cultura de *P. falciparum* produzem IL-2. Kremsner *et al.* (1990) observaram que pacientes não-ímmunes

apresentavam níveis mais baixos de IL-2 no plasma quando comparados aos semi-ímmunes, sugerindo uma imunossupressão mais acentuada nestes pacientes. Outros autores observaram ainda uma correlação entre níveis de cortisol elevados e perda da imunidade à malária em gestantes, indicando uma relação causal entre cortisol e perda da imunidade durante a gravidez (van Zon *et al.*, 1985; Vleugels *et al.* 1987 e 1989). Conhecendo-se as ações imunossupressoras do cortisol, provavelmente este aumento dos níveis deste esteróide devido à estimulação do eixo HPA, além de participar na imunomodulação, dependendo da intensidade e manutenção deste estímulo, pode concorrer para a imunossupressão existente na malária.

Os níveis de DHEA também foram correlacionados com a parasitemia, para avaliar se ocorria uma correlação negativa entre estas duas variáveis devido ao efeito imunoestimulador do DHEA (Ben-Nathan *et al.*, 1992; Rasmussen *et al.*, 1993; Danenberg *et al.*, 1995). A correlação obtida não foi significativa entre DHEA D0 e parasitemia D0, porém a correlação DHEA D0 e parasitemia D1 foi positiva e significativa, semelhantemente ao que ocorreu com o cortisol. O DHEA participa do processo de imunomodulação, atuando de maneira contrária ao cortisol. Deve-se considerar também que autores têm demonstrado que o DHEA, além do efeito imunoestimulador, apresenta uma ação anti-glicocorticóide (Browne *et al.*, 1992; Araneo & Daynes, 1995).

Um estímulo agudo do eixo HPA leva à liberação de cortisol e dos outros esteróides produzidos e secretados pelas adrenais. Baseando-se no comportamento do DHEA durante um estímulo mantido do eixo HPA, supunha-se existir correlações não significativas entre DHEA e cortisol, já que o esperado seria níveis elevados de cortisol e níveis mais baixos de DHEA em D0 (Parker *et al.*, 1985; Nieschlag *et al.*, 1973) e, em D7, cessado o estímulo do eixo HPA, tinha-se como provável obter níveis de cortisol e DHEA dentro dos parâmetros da normalidade. Em D7 observou-se o esperado, obtendo-se uma correlação não significativa; porém em D0 ($p = 0,057$), apesar de não significativa, observou-se uma tendência dos níveis de DHEA a acompanharem os níveis de cortisol,

pois ambos estavam aumentados no pré-tratamento, porém os níveis de cortisol apresentaram um aumento mais significativo que os níveis de DHEA.

Foram calculadas as correlações entre níveis séricos de cortisol e temperatura axilar no momento da coleta em D0, obteve-se uma correlação não significativa, levando a crer que o aumento da temperatura não é um estímulo agudo da liberação do ACTH e conseqüente liberação do cortisol, já que, mesmo no estresse mantido, o estímulo agudo com ACTH leva a um aumento dos níveis de cortisol em indivíduos com doença crônica semelhantes aos indivíduos saudáveis (Parker *et al.*, 1985).

A correlação DHEA e temperatura axilar no momento da coleta em D0 também não foi significativa, deduzindo-se que o nível de temperatura não interfere nesta variável. Porém, calculando-se a correlação parcial entre cortisol, DHEA e temperatura, verificou-se que os níveis de cortisol não interferiam na correlação DHEA e temperatura, os níveis de DHEA não interferiam na correlação cortisol e temperatura, porém os níveis de temperatura interferiam positivamente de maneira significativa na correlação DHEA e cortisol, justificando-se tal fato porque a febre reflete o momento da lise das hemácias liberando antígenos do parasita para a circulação, que levam à liberação de citocinas como o FNT- α e IL-1. Estas citocinas estimulam o centro termorregulador do hipotálamo, assim como o eixo HPA, e este fato pode justificar os níveis de DHEA mais elevados no pré-tratamento.

As correlações entre níveis de cortisol e TED e DHEA e TED foram calculadas para se verificar o comportamento destes esteróides em relação ao tempo de doença. Obteve-se uma correlação não significativa entre cortisol e TED, porém observa-se na prática que o cortisol tende a cair com o decorrer da doença. O que poderia ser explicado pelo fato de que com o decorrer do tempo o paciente vai adquirindo certa resistência à malária, ou seja, um efeito anti-parasitário mediado por células Th1 e mais lentamente, envolvendo resposta celular Th2 que promove a

formação de anticorpos (Taylor-Robinson, 1993). Por conseguinte, com a melhora clínica, haveria uma diminuição do estímulo do eixo HPA.

Obteve-se uma correlação não significativa entre DHEA e TED em D0. Parker *et al* (1985) observaram que pacientes com história de doença a partir de uma semana, apresentavam níveis mais baixos de DHEA, porém não significativos em relação ao grupo controle. Nesta casuística, os níveis de DHEA apresentaram uma tendência em acompanhar os níveis de cortisol, e observou-se que a temperatura interferia positivamente de modo significativo na correlação cortisol e DHEA. Considerando que a temperatura reflete o momento da ruptura das hemácias, em que ocorre a liberação de antígenos do parasita, levando à liberação de citocinas e outros mediadores da inflamação, logo é provável que a liberação de citocinas sirva como um fator de agudização do estímulo do eixo HPA, fazendo com que os níveis de DHEA acompanhassem positivamente os níveis de cortisol. Este fato pode ter interferido na correlação DHEA e TED em D0, provocando uma subida nos níveis de DHEA.

Verificou-se uma correlação negativa significante entre os níveis de DHEA D7 com o tempo de evolução de doença até o oitavo dia de acompanhamento (D7), mostrando que, provavelmente, a ruptura das hemácias deve ter interferido na correlação destas variáveis em D0, uma vez que em D7 todos os pacientes estavam assintomáticos, o que leva a crer, também, que a recuperação dos níveis de DHEA cessado o estímulo do eixo HPA não ocorre de imediato, já que os níveis de DHEA em D7 são mais baixos do que em D0 e correlacionam-se negativamente com o tempo de evolução da doença.

A correlação entre níveis de cortisol e IgG anti-*P. falciparum* não foi significativa, o que parecia correto, já que, os níveis de cortisol interferem, principalmente, na imunidade mediada por células, e em baixas doses não inibem a síntese e não levam à diminuição dos níveis de imunoglobulinas; além disso, modulam a formação de anticorpos pelo nível de atividade de células T

(Bondy, 1985). Soma-se a isto o fato de a imunidade humoral na malária ser lentamente adquirida, sendo os níveis de anticorpos totais correlacionados principalmente com o número de episódios de malária que o indivíduo já apresentou (Wahlgren *et al.*, 1986).

Quanto à correlação anticorpos e DHEA, também não foi significativa, o que pode ser explicado, em parte, pelo fato dos níveis de DHEA obtidos não corresponderem aos verdadeiros níveis basais do paciente, estando o mesmo sob um estímulo mantido do eixo HPA (Parker *et al.*, 1985). Além disso, o DHEA atua, principalmente, estimulando a imunidade mediada por células (Ben-Nathan *et al.*, 1992; Rasmussen *et al.*, 1993; Danenberg *et al.*, 1995).

A correlação temperatura axilar e tempo de evolução da doença não foi significante. Apesar deste resultado, observa-se na prática que quanto maior o tempo de doença, menos febre o paciente apresenta, provavelmente, devido à imunidade que o mesmo vai adquirindo (Kwiatkowski, 1995). A correlação entre temperatura e parasitemia não foi significativa ($p = 0,076$), este resultado deveu-se provavelmente ao fato do evento febre depender de fatores ligados naturalmente ao hospedeiro como sua propensão de liberar o FNT e fatores inerentes ao parasita como a sua habilidade em estimular a liberação do FNT (Kwiatkowski, 1995).

No cálculo da correlação parasitemia e TED, obteve-se um resultado não significativo. Este resultado contraria o observado na prática, já que pacientes com mais tempo de doença geralmente apresentam parasitemias mais baixas. Segundo Kwiatkowski (1995), o eixo toxina-FNT parece ser um importante mecanismo de retroalimentação negativa que regula o crescimento dos parasitas da malária humana em seu hospedeiro, o que pode ser um exemplo de co-evolução hospedeiro – parasita. A desvantagem para o hospedeiro é febre, e, ocasionalmente, complicações severas. Mas em termos evolucionários existe um pequeno preço a pagar por um mecanismo de defesa natural que mantém a densidade parasitária dentro de limites seguros. Para o parasita, apesar de seu

02

crescimento ficar limitado, a infecção não é erradicada, e isto capacita o hospedeiro a sobreviver como um reservatório viável de infecção.

6 CONCLUSÕES

Frente aos resultados obtidos na pesquisa, é possível concluir que:

- a) ocorreu aumento dos níveis séricos de cortisol e DHEA em pacientes com malária por *P. falciparum*;
- b) os níveis de DHEA acompanharam os níveis de cortisol no momento da febre, indicando que a ativação dos dois hormônios tenha mecanismo comum;
- c) a lise das hemácias, conseqüência da esquizogonia, deve ter agido como um fator de agudização do estímulo do eixo HPA, levando à liberação de DHEA;
- d) houve uma correlação positiva entre cortisol em D0 e parasitemia em D1 e cortisol em D1 e parasitemia em D1;
- e) houve uma correlação positiva entre DHEA em D0 e parasitemia em D1;
- f) não houve correlação entre níveis de anticorpos e cortisol;
- g) não houve correlação entre níveis de anticorpos e DHEA;
- h) não houve correlação entre níveis de cortisol e DHEA com a temperatura, porém a mesma interferiu de forma significativa na correlação entre cortisol e DHEA;
- i) ocorreu uma queda dos níveis de DHEA com a evolução da doença em pacientes com malária por *P. falciparum*;
- j) não houve correlação entre níveis de cortisol e tempo de evolução da doença em pacientes com malária por *P. falciparum*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARANEO, B., DAYNES, R. Dehydroepiandrosterone functions as more than an antiglucocorticoid in preserving immunocompetence after thermal injury. **Endocrinology**, Baltimore, v. 136, n. 2, p. 393-401, 1995.
- AUCOTT, J. N. Glucocorticoids and infections. In: ARON, D. C., TYRREL, J. B. Cushing's Syndrome. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, Philadelphia: W. B. Saunders, v. 23, n.3, p. 655-670, Sep. 1994.
- BALLET, J. J., JAUREGUIBERRY, G., DELORON, P., AGRAPART, M. Stimulation of T lymphocyte-dependent differentiation of activated human B lymphocytes by *Plasmodium falciparum* supernatants. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 155, n. 5, p. 1037-1040, 1987.
- BAYBUTT, H. N., HOLSBOER, F. Inhibition of macrophage differentiation and function by cortisol. **Endocrinology**, Baltimore, v. 127, n. 1, p. 476-480, 1990.
- BEN-NATHAN, D., LUSTIG, S., KOBILER, D., DANENBERG, H. D., LUPU, E., FEUERSTEIN, G. Dehydroepiandrosterone protects mice inoculated with nile virus and exposed to cold stress. **Journal of Medical Virology**, New York, v. 38, n. 1, p. 159-166, 1992.
- BERENDT, A. R., FERGUSON, D. P. J., NEWBOLD, C. I. Sequestration in *Plasmodium falciparum* malaria: sticky cells and sticky problems. **Parasitology Today**, London, v. 6, n. 8, p. 247-254, 1990.
- BONDY, P. K. Disorders of the adrenal cortex. In: FOSTER, D.W., WILSON, J. D. **Williams Textbook of Endocrinology**. 7 ed. Philadelphia: Igaku-Shoin / Saunders, 1985, p. 816-890.
- BOUHAROUN-TAYOUN, H., DRUILHE, P. Antibodies in *falciparum* malaria: what matters most, quantity or quality? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 87, supl. 3, p. 229-234, 1992.

- BROOKS, M.H., BARRY, K.G., CIRKSENA, W.J., MALLOY, J.P., BRUTON, J., GILLILAND, P.F. Pituitary-adrenal function in acute *falciparum* malaria. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Lawrence, v.18, n. 6, p. 872-877, 1969.
- BROWNE, E. S., WRIGHT, B. E., PORTER, J. R., SVEC, F. Dehydroepiandrosterone: antigluco-corticoid action in mice. **American Journal of Medical Science**, Hagerstown, v. 303, n. 6, p. 366-371, 1992.
- BRUCE-CHWATT L.J. Historical outline. In:_____. **Essential malariology**. London: William Heinemann, 1980a. p. 1-9.
- BRUCE-CHWATT L.J. The malaria parasites. In:_____. **Essential malariology**. London: William Heinemann, 1980b. p. 10 -34.
- CANTRELL, W., KENDRICK, L. P. Cortisone and antimalarial drug activity against *Plasmodium berghei*. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 113, n. 2, p. 144-155, 1963.
- CHROUSOS, G. P. Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston: The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 332, n. 20, p. 1351-1362. May. 1995.
- CLARK, I. A., CHAUDHRI, G., COWDEM, W. B. Roles of tumor necrosis factor in the illness and pathology of malaria. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v.83, n. 4, p. 436-440, 1989.
- COLLINS, W. E., JEFFERY, G. M., SKINNER, J. C. Fluorescent antibody studies in human malaria. II. Development and persistence of antibodies to *Plasmodium falciparum*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Lawrence, v. 13, n. 2, p. 256-260, 1964
- COOK, D. J., GUYATT, H., McILOY, W., REEVE, B., WILLAN, A., PEARL, R. G. Serum cortisol: a predictor of mortality in sepsis? **Journal of Intensive Care Medicine**, Boston, v. 7, n. 2, p. 84-89, Mar-Apr. 1992.

- COX, F. E. G., LIEW, E. Y. T- cells subsets and cytokines in parasitic infections. **Parasitology Today**, London, v. 8, n. 11, p. 371-374, 1992.
- DANENBERG, H. D., ALPERT, G., LUSTIG, S., BEN-NATHAN, D. Dehydroepiandrosterone protects mice from endotoxin toxicity and reduces tumor necrosis factor production. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 36, n. 10, p. 2275-2279, 1992.
- DANENBERG, H. D., BEN-YEHUDA, A., ZAKAY-RONES, Z., FRIEDMAN, G. Dehydroepiandrosterone enhances influenza immunization in aged mice. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 774, p. 297-299, Dec. 1995.
- DIGGS, C. L.; SADUN, E. H. Serological cross reactivity between *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* as determined by a modified fluorescent antibody test. **Experimental Parasitology**, New York, v. 16, n. 2, p. 217-223, Apr. 1965.
- ESKOLA, J. U., NÄNTÖ, V., MEURLING, L.; LÖVGREN, T. N-E. Direct solid-phase time-resolved immunofluorometric assay of cortisol in serum. **Clinical Chemistry**, Winston, v. 31, p. 1731-1734, 1985.
- FERRARONI, J. J., DOUGLASS, T. G., SPEER, C. A. Effects of *Mycobacterium bovis* BCG, bacterial lipopolysaccharide and hydrocortisone on the development of immunity to *Plasmodium berghei*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 28, n. 1, p. 36-45, 1986.
- FERREIRA, A. W. Detección de anticuerpos. In: López-Antuñano, F. J., Schmunis, G. **Diagnostico de Malaria**. Washington:OPAS, 1988. p. 86-96 (Publicacion Cientifica nº 512).
- FERREIRA, M. S. Malária: Conceito, Etiologia e Ciclo Evolutivo. In: VERONESI, R., FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**, São Paulo: Atheneu, 1996. p. 1260-1264.
- FULTON, J. D. Cortisone and *Plasmodium berghei* infections in rodents. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, London, v. 48, n.3, p. 314-317, 1954.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Manual de Terapêutica da Malária**. Brasília: FNS, 1996. 99 p.

GILLES, H.M. **Tratamento da Malária Grave e Complicada**. Brasília: OMS, 1995. 56 p.

GORDEAUX, V., THUMA, P., BRITTENHAM, G., McLAREN, C. *et al.* Effect of iron chelation therapy on recovery from deep coma in children with cerebral malaria. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 327, n. 21, p. 1473-1477, Nov. 1992.

HEMILÄ, I., DAKUBU, S., MUKKALA, V. M., SILITARI, H., LÖVGREN, T. N-E Europium as a label in time-resolved immunofluorometric assays. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 137, n. 2, p. 335-43, 1984.

HILL, A. V. S. Malaria resistance genes: a natural selection. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 86, n.3, p. 225-226, 232, 1992.

HO, M., WEBSTER, H. K., LOOAREESUVAM, S. *et al.* Antigen-specific immunosuppression in human malaria due to *Plasmodium falciparum*. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 153, n. 4, p. 763-771, Apr. 1986.

HOFFMAN, S. L., RUSTAMA, D., PUNJABI, N. H. *et al.* High-dose dexamethasone in quinine-treated patients with cerebral malaria. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 158, n. 2, p. 325-331, Aug. 1988.

HOGH, B. Natural development of clinical and parasitological immunity in children. In: Clinical and parasitological studies on immunity to *Plasmodium falciparum* malaria in children. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, Stockholm, Sup. 102, p. 11-20, 1996a.

HOGH, B. Immune response to *P. falciparum* infection. In: Clinical and parasitological studies on immunity to *Plasmodium falciparum* malaria in children. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, Stockholm, suppl. 102, p. 21-25, 1996b.

- HOMMEL, M. Amplification of cytoadherence in cerebral malaria: towards a more rational explanation of disease pathophysiology. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, London, v. 87, n. 6, p. 627-635, 1993.
- IFCC, EPTRV. The theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. **Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry**, [S.L.], v. 21, p. 749, 1983.
- IMURA, H., FUKATA, J., MORI, T. Cytokines and endocrine function: an interaction between the immune and neuroendocrine systems. **Clinical Endocrinology**, Oxford, v. 35, p. 107-115, 1991.
- JACKSON, G. J. The effect of cortisone on *Plasmodium berghei* infections in the white rat. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 97, n. 2, p. 152-159, 1955.
- KREMSNER, P. G., ZOTTER, G. M., FELDMEIR, H., GRANINGER, W., ROCHA, R. M., JANSEN-ROSSECK, R., BIENZLE, U. Immune response in patients during and after *Plasmodium falciparum* infection. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, n.5, v. 161, p. 1025-1028, May, 1990.
- KWIATKOWSKI, D. Malarial toxins and the regulation of parasite density. **Parasitology Today**, London, v.11, n. 6, p. 206-212, 1995.
- KWIATKOWSKI, D., HILL, A. V. S.; SAMBOU, I.; TWUMASI, P.; CASTRACANE, J.; MANOGUE, K. R.; CERAMI, A.; BREWSTER, D. R.; GREENWOOD, B. M. TNF Concentration in fatal cerebral, non-fatal cerebral, and uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. **The Lancet**, London, v. 336, n. 8725, p. 1201-1204, Nov. 1990.
- LÓPEZ-ANTUÑANO, F. J. Diagnostico microscopico en la sangre. In: López-Antuñano, F. J., Schmunis, G. **Diagnostico de Malaria**. Washington:OPAS, 1988. p. 78-86 (Publicacion Cientifica n° 512)

- LORIA, R. M., PADGETT, D. A. Mobilization of cutaneous immunity for systemic protection against infections. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 650, p. 363-366, Apr. 1992.
- LÖVGREN, T., HEMILÄ, I.; PETTERSSON, K., ESKOLA, J. U., BERTOFT, E. Determination of hormone by time-resolved fluoroimmunoassay. **Talanta**, London, v. 31, p. 909-916, 1984.
- MARCONDES, J. A. M. Síndromes adrenogenitais. In: WAJCHENBERG, B. L. **Tratado de Endocrinologia Clínica**, São Paulo: Roca, 1992, p. 483-526.
- MARQUES, A. C., CÁRDENAS GUTIERREZ, H. Combate à malária no Brasil: evolução, situação atual e perspectivas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 27, supl. 3, p. 91-108, out. / dez. 1994.
- McLACHLAN, J. A., SERKIN, C. D., BAKOUCHE, O. Dehydroepiandrosterone modulation of lipopolysaccharide-stimulated monocyte cytotoxicity. **The Journal of Immunology**, Baltimore, v. 156, n. 1, p. 328-335, jan. 1996.
- MILLER, W. L., TYRREL, J. B. The adrenal cortex. In: FELLIG, P.; BAXTER, J. D., FROHMAN, L. A. **Endocrinology and Metabolism**, 3 ed. New York: McGraw-Hill, 1995, p. 555-711.
- MOLINEAUX, L. The epidemiology of human malaria as an explanation of its distribution, including some implication for its control. In: WERNSDORFER, W. H.; MCGREGOR, S. I. **Malaria - Principles and Practice of Malariology**. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1988. v. 2, p. 913-998.
- NIESCHLAG, E., LORIAUX, D., RUDER, H., KIRSCHER, M., LIPSETT, M. The secretion of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone-sulphate in man. **Journal of Endocrinology**, London, v. 57, n.1, p. 123-134, 1973.
- OLIVEIRA, R. M. G., SOUZA, J. M. Revisão do quadro clínico em pacientes portadores de malária por *P. falciparum*. **Revista Brasileira de Malariologia e Medicina Tropical**. Brasília, v. 35, p. 57-63, 1983.

- ORENTEICH, N., BRIND, J. L., RIZER, R. L., VOGELMAN, J. H. Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations throughout adulthood. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Baltimore, v. 59, n. 3, p. 551-555, 1984.
- ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **Situación de los Programas de Malaria en las Americas**. XLIV Informe. Washington: OPAS, Sept. 1996. 23 p.
- PARKER, L. N., LEVIN, E. R., LIFRAK, E. T. Evidence for adrenocortical adaptation to severe illness. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. Baltimore, v. 60, n. 5, p. 947-952, 1985.
- PÉRIGNON, J. L., DRUILLE, P. Immune mechanisms underlying the premunition against *Plasmodium falciparum* malaria. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.89, supl. 2, p. 51-53, 1994.
- PETERSEN, E., HOGH, B., MARBIAH, N., DAVID, K., HANSON, A. P. Development of immunity against *Plasmodium falciparum* malaria: clinical and parasitologic immunity cannot be separated. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 164, n. 5, p. 949-953, 1991.
- PICHYANGKUL, S., SAENGKRAI, P., WEBSTER, H. K. *Plasmodium falciparum* pigment induces monocytes to release high levels of tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β . **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Lawrence, v. 51, n. 4, p. 430-435, 1994.
- PLAYFAIR, J. H. L., BLACHKWELL, J. M., MILLER, H. R. P. Modern vaccines. Parasitic diseases. **The Lancet**, London, n. 8700, v. 335, p. 1263-1266, 1990.
- RASMUSSEN, K. R., MARTIN, E. G., HEALEY, M. C. Effects of dehydroepiandrosterone in immunosuppressed rats infected with *Cryptosporidium parvum*. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 79, n. 3, p. 364-370, 1993.
- REY, L. Os Plasmódios e a Malária: Ecologia e Epidemiologia. In: _____. **Parasitologia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992a. p. 315-327.

- REY, L. Os Plasmódios e a Malária: I. Os Parasitos. In:_____. **Parasitologia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992 b, p. 286-297.
- RINGWALD, P., PEYRON, F., VUILLEZ, J. P., TOUZE, J. E. *et al.* Levels of cytokines in plasma during *Plasmodium falciparum* malaria attacks. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 29, n. 9, p. 2076-2078, Sept. 1991.
- ROCKETT, K. A., AWBURN, M. M., ROCKETT, E. J., CLARK, I. A. Tumor necrosis factor and interleukin-1 synergy in the context of malaria pathology. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Lawrence, v.50, n.6, p. 735-742, 1994.
- SCHMIDT, L. H., SQUIRES, W. The influence of cortisone on primate malaria. **Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 94, n. 6, p. 501-520, 1951.
- SCHNEIDER, J. Cortisone et paludisme action nulle dans des essais sur *Pl. berghei*, *Pl. gallinaceum* et *Pl. vivax*. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, Paris, v. 46, n. 6, p. 1016-1023, 1953.
- SIMULAT, K., WHITE, N. J. Relation of the stage of parasite development in the peripheral blood to prognosis in severe *falciparum* malaria. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, n.4, v.87, p. 436-443, 1993.
- SINGER, I. The effect of cortisone on infections with *Plasmodium berghei* in the white mouse. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, n. 2, v. 94, p. 164-172, 1954.
- SOINI, E., KOJOLA, H. Time-resolved fluorometer for lanthanide chelates – a new generation of non-isotopic immunoassays. **Clinical Chemistry**, Winston, v. 29, n. 10, p. 65-68, 1983.
- SONI, A., PEPPER, G. M., WYRWINSKI, P. M. *et al.* Adrenal insufficiency occurring during septic shock: incidence, outcome, and relationship to peripheral cytokine levels. **The American Journal of Medicine**, Newton, v. 98, n. 3, p. 266-271, Mar. 1995.

SPIEGELBERG, H. L. Biological activities of immunoglobulins of different classes and subclasses.

Advances in Immunology, New York, v. 19, n.0, p. 259-294, 1974.

STERNBERG, E. M., CHROUSOS, G. P.; WILDER, R. L.; GOLD, P. W. The stress response and the regulation of inflammatory disease. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, v. 117, n. 10, Nov. 1992.

TARGETT, G.A.T. Virulence and the immune response in malaria. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 87, supl.5, p. 137-144, 1992.

TAUIL, P. L. Malária: Epidemiologia. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**, São Paulo: Atheneu, 1996. p. 1264-1268.

TAYLOR-ROBINSON, A. W. Regulation of immunity to malaria: valuable lessons learned from murine models. **Parasitology Today**, London, v. 11, n. 9, p. 334-342, 1995.

TAYLOR-ROBINSON, A. W., PHILLIPS, R. S., SEVERN, S. M., LIEW, F. Y. The role of Th1 and Th2 cells in a rodent malaria infection. **Science**, Washington, v. 260, n. 5116, p. 1931-1934, Jun. 1993.

TSIGOS, C., CHROUSOS, G. P. Physiology of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in health and dysregulation in psychiatric and autoimmune disorders. In: Aron, D. C.; Tyrrel, J. B. Cushing's Syndrome. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, Philadelphia: W. B. Saunders, v. 23, n.3, p. 655-670, Sep. 1994.

UDEINYA, I.J., AKOGERAM, C.O. Induction of adhesiveness in human endothelial cells by *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Lawrence, v. 48, n. 4, p. 488-495, 1993.

van ZON, A. A. J. C., ELING, W. M. C., SCHETTERS, T. P. M., HERMSEN, C. C. ACTH-dependent modulation of malaria immunity in mice. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 7, n. 2, p. 107-117, 1985.

VLEUGELS, M. P. H., BRABIN, B., ELING, W. M. C., de GRAAF, R. Cortisol and *Plasmodium falciparum* infection in pregnant women in Kenya. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 83, n. 2, p. 173-177, 1989.

VLEUGELS, P. H., ELING, W. M. C., ROLLAND, R., DE GRAAF, R. Cortisol and loss of malaria immunity in human pregnancy. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, Oxford, v. 94, n. 8, p. 758-764, Aug. 1987.

WAHLGREN, M., PERLMANN, H., BERZINS, K. *et al.* Characterization of the humoral immune response in *Plasmodium falciparum* malaria. III. Factors influencing the coexpression of antibody isotypes (IgM and IgG-1 to 4). **Clinical Experimental Immunology**, Oxford, v. 63, p. 343-353, 1986.

WAHLGREN, M.; FERNANDEZ, V.; SCHOLANDER, C.; CARLSON, J. Rosetting. **Parasitology Today**, London, v. 10, n. 2, p. 73-79, 1994.

WARREL, D. A., LOOAREESUWAN, S., WARREL, M. J. *et al.* Dexamethasone proves deleterious in cerebral malaria. A double-blind trial in 100 comatose patients. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 306, n. 6, p. 313-319, 1982.

WHITE, N. J., LOOAREESUWAN, S., PHILLIPS, R. E., WARREL, D. A., CHANTHAVANICH, P., PONGPAEW, P. Pathophysiological and prognostic significance of cerebrospinal-fluid lactate in cerebral malaria. **The Lancet**, London, v. 1, n. 8432, p. 776-778, Apr. 1985.

WHITE, N. J., MARSH, K., TURNER, R. C., MILLER, K. D., BERRY, C. D., WILLIAMSON, D. H.; BROWN, J. Hypoglycaemia in Africa children with severe malaria. **The Lancet**, London, v. 1, n. 8535, p. 708-711, Mar. 1987.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Weekly Epidemiological Record**. Geneva: WHO, v. 69, 1994, p. 309-316.

YALOW, R., BERSON, S. Introduction and general considerations. In: Odell, W. D.; Daughaday, W. H.

(eds): **Principles of Competitive Protein Binding Assays**, Philadelphia: J. B. Lippincott, 1971, p. 1-19.

YEN, S. S. C.; MORALES, A. J.; KHORRAM, O. Replacement of DHEA in aging men and women. Potential

remedial effects. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 774, p. 128-142, Dec. 1995.

ANEXO 1 - PROTOCOLO EPIDEMIOLÓGICO CLÍNICO-TERAPÊUTICO

MS/FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE / CR DO PARÁ		VIGILÂNCIA DA RESPOSTA DOS PARASITAS DA MALÁRIA A DROGAS/ESQUEMAS TERAPÊUTICOS							
MS/FNS/INSTITUTO EVANDRO CHAGAS									
MEC/UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ									
FEP/ESCOLA DE ENFERMAGEM MAGALHÃES BARATA									
GUARDA/PN _____ Lâmina nº _____ Data _____ Diagnóstico _____ Nome do paciente _____ Sexo _____ Idade _____ (anos / meses) Nome do responsável _____ Parentesco _____ Telefone _____ Endereço _____ Perímetro _____ Bairro _____ Local de nascimento _____ Cor da Pele _____ Peso _____ Ocupação principal _____ Ocupação alternativa _____ Localidade de infecção _____ Município _____ UF _____ Período de permanência na área _____ Autoctonia? () sim () não Passado nosológico: nº de vezes que teve malária () nunca () 1 vez () 2 vezes () 3 vezes () 4 vezes () 5 vezes Última vez _____ Medicamento(s) utilizado(s) no último tratamento _____ Quantos dias _____ Data _____ Outras doenças: Hepatite _____ Leishmaniose _____ D. Chagas _____ Amebíase _____ Esquistossomose _____ Outras _____ Alergia? () sim () não A que? _____ Quando adoece, usa remédio de farmácia? () sim () não Caseiro? () sim () não IEPC - Movimentação do paciente: Nos últimos 12 meses viajou ou pernitoiu fora da localidade onde reside? () sim () não Período _____ Localidade _____ Município _____ UF _____ Motivo da viagem _____ Teve febre na localidade onde dormiu? () sim () não Quantos dias após regressar? _____ Onde pernitoiu havia alguém com febre? _____ Nome _____ HDA - Sinal ou sintoma clínico inicial _____ Data início sintomas _____ Droga(s) utilizada(s) no tratamento atual _____ Formulação da droga (VO, IM, EV) _____ Quantidade (amp., frasc., comp.) _____									
SINAIS E SINTOMAS REFERENTES AO QUADRO CLÍNICO E/OU DECORRENTES DE INTOLERÂNCIA OU TOXIDADE DEVIDAS AO MEDICAMENTO (OU ASSOCIAÇÃO DE DROGAS) EM ESTUDO ¹									
Sinal/Sintoma / DIA	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	DX	DX
Febre									
Calafrio									
Cefaléia									
Artralgia / lumbalgia									
Astenia / mialgias									
Tonteira									
Zumbidos / surdez									
Insônia									
Náuseas / vômitos									
Epigastria									
Erução / flatos									
Diarréia									
Colúna									
Oligúria / anúria									
Palidez / icterícia									
Prurido / erigja									
Tosse / dispnéia									
Anorexia nervosa									
Esplenomegalia									
Hepatomegalia									
Pressão arterial									
Freq. Respiratória									
Pulso									
Temperatura axilar									

¹ As informações deverão ser registradas segundo a convenção que se segue: Ausente/normal=0 Alteração discreta=1 Moderada=2 Severa=3 Severíssima=4

ANEXO 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO

Declaro para os devidos fins que concordo em me submeter à coleta de três amostras de sangue de 10 ml cada, nos dias D0, D1 e D7 do meu tratamento de malária no Instituto Evandro Chagas, para fins de pesquisa no projeto Avaliação dos Níveis Séricos de Cortisol e Dehidroepiandrosterona em Pacientes com Malária por *Plasmodium falciparum* Não-complicada.

Belém, ___ de _____ de 1996

ANEXO 3 - RESUMO DOS RESULTADOS DAS PROVAS ESTATÍSTICAS

1. Correlação entre níveis de anticorpos IgG anti-*P. falciparum* e passado malárico: $r_s = 0,467$, $p < 0,05$.
2. Correlação entre níveis de anticorpos IgG anti-*P. falciparum* e TED: $r_s = 0,289$, $p > 0,05$.
3. Correlação entre níveis de anticorpos IgG anti-*P. vivax* e anticorpos IgG anti-*P. falciparum*: $r_s = 0,673$, $p < 0,01$
4. Correlação entre níveis de anticorpos IgG anti-*P. vivax* e passado malárico: $r_s = 0,463$, $p < 0,05$
5. Comparação entre níveis de cortisol em D0, D1 e D7: Friedman (Xr^2) = 30,17, $p < 0,0001$; D0 – D1 = 15,5, $p < 0,05$; D0 – D7 = 35,5, $p < 0,01$, D1 – D7 = 20, $p < 0,01$.
6. Comparação entre níveis de cortisol em D0 e D1 dos pacientes que fizeram uso de sulfato de quinino com tetraciclina: $t = 2,373$, $p = 0,03$.
7. Comparação entre os níveis de DHEA em D0 e D7: $t = 2,829$, $p = 0,013$.
8. Correlação entre cortisol e parasitemia: cortisol e parasitemia em D0: $r = 0,075$, $p = 0,726$; cortisol D0 e parasitemia D1: $r = 0,625$, $p = 0,001$; cortisol e parasitemia em D1: $r = 0,463$, $p = 0,023$.
9. Correlação entre cortisol e parasitemia dos pacientes que fizeram uso de sulfato de quinino com a tetraciclina: cortisol D0 e parasitemia D1 = $r = 0,686$, $p = 0,002$; cortisol D1 e parasitemia D1: $r = 0,518$, $p = 0,028$.
10. Correlação entre DHEA e parasitemia: DHEA e parasitemia D0: $r = 0,162$, $p = 0,549$; DHEA D0 e parasitemia D1: $r = 0,502$, $p = 0,047$.
11. Correlação entre cortisol e DHEA: cortisol e DHEA em D0: $r = 0,485$, $p = 0,057$; cortisol e DHEA em D7: $r = 0,351$, $p = 0,351$, $p = 0,182$.
12. Correlação entre níveis de cortisol e temperatura: $r = 0,104$, $p = 0,637$.
13. Correlação entre níveis séricos de DHEA e temperatura: $r = - 0,312$, $p = 0,257$.
14. Correlação parcial entre níveis de temperatura (X), cortisol (Y) e DHEA (Z): $R_{xy.z} = 0,411$, $p = 0,145$; $R_{xz.y} = -0,473$, $p = 0,087$ e $R_{yz.x} = 0,557$, $p = 0,038$.
15. Correlação entre cortisol em D0 e níveis de anticorpos totais IgG anti-*P. falciparum*: $r_s = 0,135$, $p > 0,05$.
16. Correlação entre níveis de DHEA e anticorpos totais anti-*P. falciparum*: DHEA D0 e anticorpos: $r_s = 0,182$, $p > 0,05$; DHEA D7 e anticorpos: $r_s = - 0,184$, $p > 0,05$.
17. Correlação entre níveis de cortisol em D0 e TED: $r = - 0,293$, $p = 0,164$.
18. Correlação entre DHEA e TED: $r = - 0,283$, $p = 0,288$.
19. Correlação entre níveis de cortisol em D7 e TED até D7: $r = 0,102$, $p = 0,661$

20. Correlação entre DHEA em D7 e TED até D7: $r = -0,580$, $p = 0,018$
21. Correlação entre temperatura e TED: $r = -0,404$, $p = 0,056$.
22. Correlação entre temperatura e parasitemia em D0: $r = 0,378$, $p = 0,076$.
23. Correlação entre TED e parasitemia em D0: $r = -0,263$, $p = 0,215$.