

IX

Ibuprofen ne modifie ni le taux de TNF- α ni celui des récepteurs solubles de TNF de type I et II au cours du traitement de la fièvre des enfants souffrant d'un paludisme simple

Elie Mavoungou
Professeur d'Immunologie

In the European Cytokine Network, vol. 18, n°4, pp. 201-205, 2007

Résumé

Nous avons évalué la capacité de l'ibuprofen à moduler le taux de TNF- α , du récepteur soluble du TNF de type I (sTNFR-I) et celui de type II (sTNFR-II) au cours du traitement de la fièvre associée au paludisme à *Plasmodium falciparum* lors d'une étude placebo, contrôlée, randomisée et en double aveugle de 50 patients pédiatriques, réalisée à Lambaréné au Gabon. Le traitement du paludisme des patients était basé sur la prise de la quinine administrée par voie intraveineuse (12 mg/kg de dichlorure de quinine toutes les 12h pendant 72h) suivie d'une dose orale unique de sulfadoxine/pyriméthamine (25 mg et 1,25 mg/kg). La fièvre était jugulée par traitement mécanique puis par l'administration soit d'ibuprofen (7 mg/kg toutes les 8h) soit de placebo durant la période d'hospitalisation. Nous avons déterminé la concentration plasmatique de TNF- α , de sTNFR-I et de sTNFR-II dans le sang périphérique durant toute la durée du traitement dans les deux groupes d'enfants. Les taux de TNF- α étaient positivement corrélés avec la température corporelle. À l'inverse, les taux plasmatiques des récepteurs de TNF n'étaient pas différents dans les deux groupes et l'effet antipyrétique de l'ibuprofen n'était pas corrélé avec les changements de production de sTNFR-I et de sTNFR-II. Nos données suggèrent que TNF- α serait impliquée dans la fièvre associée au paludisme, mais que les récepteurs du TNF ne joueraient cependant pas un rôle majeur dans la modulation de cette fièvre.

1. Introduction

Le paludisme à *Plasmodium falciparum* est le premier responsable de la mort d'enfants dans les zones d'endémie palustre [1]. Les processus immunologiques conduisant à la tolérance clinique de l'infection à plasmodium sont actuellement très mal compris. L'augmentation du taux plasmatique de TNF- α est souvent rapportée chez des patients souffrant du paludisme, et le TNF- α est impliqué aussi bien dans le contrôle du paludisme par l'organisme que dans la survenue des cas de paludisme grave [2-6]. Le TNF- α a également été décrit comme étant corrélé à la parasitémie [3,6], à la fièvre [7,8], au paludisme cérébral [9-13], aux forts taux de morbidité et de mortalité associées au paludisme [4,5] et aux mauvaises conséquences sur la vie des nourrissons nés de mères infectées par *P.falciparum* au cours de leur grossesse [14,15]. La présence dans la circulation générale d'antigènes parasitaires résistant à la chaleur semblerait être le principal inducteur de la production de TNF [16]. Les domaines extracellulaires tronqués des deux récepteurs de surface (p55TNF-R et p75TNF-R) du TNF- α ont été identifiés comme étant des inhibiteurs de TNF- α [17]. Ces deux domaines sont générés par le clivage protéolytique du récepteur de TNF de la surface cellulaire (TNF-R) dans des formes solubles, considérées comme étant le récepteur soluble de type I du TNF (sTNFR-I) et de type II (sTNF-RII). La formation compétitive des complexes sTNF-R/TNF- α et les interactions complexes entre l'activité et le contrôle du TNF- α [18,19] dans plusieurs pathologies, y compris le paludisme, suggèrent que ce processus pourrait aussi être important dans le traitement du paludisme.

Le rôle du TNF- α du sang périphérique et de ses récepteurs solubles dans le traitement du paludisme, en présence et/ou en absence d'antipyrétiques, n'a jamais été examiné. Pour répondre à la question : « Est-ce que l'effet antipyrétique de l'ibuprofène influence la production de TNF ? », nous avons évalué l'impact du traitement de la fièvre associée au paludisme utilisant l'ibuprofène, - un anti-inflammatoire non stéroïdien - en association avec le traitement classique du paludisme simple à *P. falciparum*. Les résultats purement cliniques de cette étude ont fait l'objet d'une autre publication [20]. Nous présentons ici, les données concernant le rôle joué par l'effet antipyrétique de l'ibuprofène sur le TNF- α ,

le sTNFR-I et le sTNFR-II du sang périphérique des enfants souffrant du paludisme. Nous avons comparé la réponse immunitaire des enfants ayant reçu le traitement classique anti-paludique plus l'ibuprofène, de ceux n'ayant reçu que le traitement classique anti-paludique plus le placebo.

2. Patients et Méthodes

2-1/ Site de l'étude et participants

Nous avons conduit une étude placebo, contrôlée, randomisée, en double aveugle, entre le mois d'avril 2003 et le mois de janvier 2004 à l'Unité de Recherches Médicales (URM) de l'Hôpital Albert Schweitzer de Lambaréné au Gabon où *P. falciparum* est endémique, avec un mode de transmission pérenne et une petite fluctuation saisonnière [21]. Le taux d'inoculation entomologique est d'environ 50 piqûres infectantes par personne et par an. Les principaux vecteurs sont *Anophèles gambiae* et *A. moucheti* [22]. Cinquante enfants souffrant d'un paludisme simple à *P.falciparum* ont été recrutés à la pédiatrie de l'hôpital Albert Schweitzer. Un consentement éclairé était obtenu auprès des parents ou auprès des responsables légaux des enfants avant l'inclusion de ces derniers dans l'étude. L'étude avait préalablement reçu l'approbation du comité d'éthique de la Fondation internationale de l'hôpital Albert Schweitzer. Elle a été réalisée selon les normes internationales des bonnes pratiques cliniques et selon les guides de l'expérimentation humaine en recherche clinique du ministère de la santé publique et de la population du Gabon.

2-2/ Obtention du sang.

Nous avons prélevé 1 ml de sang veineux toutes les quatre heures dans des tubes stériles, contenant de l'héparine. Les échantillons de sang étaient immédiatement centrifugés pendant 10 minutes à 400 g dans une centrifugeuse Biofuge pico (Heraeus Instruments), afin de séparer les culots globulaires du plasma. Les échantillons de plasma

étaient congelés puis conservés à -80°C jusqu'à leur utilisation dans les tests immunologiques.

2-3/ Diagnostic du paludisme.

Deux microscopistes expérimentés ont vérifié la présence ou non des stades sanguins asexués de *P.falciparum* dans les gouttes épaisses colorées au Giemsa selon les procédures standards de contrôle de qualité. La charge parasitaire était déterminée puis exprimée en nombre de formes asexuées de *P.falciparum* par microlitre de sang [23].

2-4/ Traitement.

Pour le traitement du paludisme, tous les patients ont reçu une infusion de 250 mL de 5% de glucose contenant 12 mg/kg de quinine dihydrochloride toutes les 12 h pendant 72 h, suivi d'une dose orale unique de sulfadoxine/pyriméthamine (25 mg et 1,25 mg/kg). Pour le traitement de la fièvre, tous les patients ont reçu un traitement mécanique (ventilation continue et refroidissement à l'aide d'une couverture mouillée), lorsque la température corporelle dépassait 37,5°C. En plus du traitement mécanique, les patients ont reçu, au hasard, soit de l'ibuprofène en sirop (7 mg/kg) soit un sirop de placebo toutes les 8 h pendant toute la durée de leur hospitalisation. Les enfants étaient hospitalisés jusqu'à ce que deux gouttes épaisses consécutives soient négatives et qu'ils n'aient plus de fièvre.

2-5/ Mesure des cytokines.

Des kits d'ELISA spécifiques à l'homme disponibles dans le commerce (Alexis Biochemicals) ont été utilisés pour cette étude en accord avec les instructions du fabricant afin de déterminer la concentration plasmatique de TNF- α , sTNFR-I et de sTNFR-II dans les échantillons conservés à -80°C. Tous les échantillons ont été testés en double. La courbe standard a été déterminée avec du matériel biologique fourni par le fabricant. L'absorbance était lue à l'aide d'un densitomètre (Multiskan R Ex, Thermo, Vantaa, Finland) à 450 nm. Une courbe de calibration a été obtenue avec des valeurs en pg/mL pour le TNF- α et en ng/mL pour le sTNFR-I et pour le sTNFR-II.

2-6/ Analyse statistique.

Toutes les données de cette étude étaient analysées avec StatCorp 2001 (Stat Statistical Software, Release 9.2 ; Stata Corporation, College Station, TX, USA). Les données démographiques, cliniques ainsi que les données de laboratoire des patients étaient enregistrées sur un formulaire de rapport de cas, introduit dans EXCEL. Les données étaient vérifiées avant d'être analysées. Les différences entre les groupes étaient évaluées en utilisant le test de Chi carré ou celui de Fischer. Les tests exacts des proportions et le test t de Student ou les tests non paramétriques de Kruskal-Wallis (pour les données non normales) ont été utilisés pour comparer les variables continues. Le test de corrélation de Spearman a été utilisé pour l'évaluation des corrélations entre les variables continues. Les valeurs de *P* moins que 0,05 étaient considérées comme significatives.

3. Résultats

3-1/ Caractéristiques de base des patients de l'étude.

Des 1230 enfants qui étaient pré-sélectionnés pour le paludisme, 430 avaient une goutte épaisse réellement positive, parmi lesquels 50 répondaient aux critères d'inclusion et étaient inclus dans l'étude. L'un des deux traitements contre la fièvre (ibuprofène ou placebo) leur était assigné au hasard avant d'être analysés. La table 1 liste les caractéristiques de base de tous les patients de l'étude. Les deux groupes étaient similaires au regard des caractéristiques de base. La moyenne de l'âge des patients était de 4 ans, la moyenne de la température corporelle de 38,4°C et la médiane de la charge parasitaire était de 62250 parasite / μ L.

3-2/ Taux plasmatiques de TNF- α , sTNFR-I et sTNFR-II.

La table 2 résume tous les résultats des mesures des taux de TNF- α , de sTNFR-I et de sTNFR-II. Nous avons comparé les taux plasmatiques de TNF- α entre les deux

groupes d'enfants à l'admission (0 heure) et à 8, 16, 24 et 48 heures après le début du traitement antipyrétique. Nous avons obtenu des résultats contradictoires. En effet, la médiane de la concentration de TNF- α chez les enfants du groupe placebo était supérieure à celle du groupe des enfants ayant reçu l'ibuprofène après 16 heures (33,11 versus 20,57) et après 24 heures (126,55 versus 121,62), mais cette différence n'était pas statistiquement significative. Cependant, la médiane de la concentration de TNF- α était plus élevée chez les enfants ayant pris l'ibuprofène que celle des enfants ayant pris le placebo aux autres temps (131,30 versus 124,21 à 0 heure, 27,26 versus 14,64 à 8 heures, et 127,9 versus 111,98 à 48 heures). Ces différences n'étaient pas non plus statistiquement significatives.

Les mesures des taux plasmatiques de sTNFR-I et de sTNFR-II ont aussi révélé des différences qui n'étaient pas statistiquement significatives entre les deux groupes aux différents temps.

3-3/ Effet du traitement antipyrétique sur la concentration plasmatique des cytokines.

La médiane des concentrations plasmatiques des cytokines ne diffère pas entre les deux groupes (ibuprofène et placebo) au début du traitement ou au jour 2. Toutefois, les différences majeures dans les taux de cytokine entre les individus avaient été observées. Des approches variables (*i.e.* analyse de la variance, modèle linéaire mixte) étaient utilisées pour analyser l'effet des traitements, mais aucune différence significative entre les deux groupes n'a été observée en terme de grandeur de changement pour les concentrations de TNF- α , sTNFR-I ou de sTNFR-II quel que soit le temps considéré et quel que soit le nombre d'individus chez qui les concentrations de cytokines augmentent ou diminuent entre deux points.

3-4/ Corrélation entre les concentrations de cytokine et le temps, la température corporelle et la parasitémie

Les données de tous les enfants étaient groupées pour l'analyse des corrélations, puisqu'il n'y a pas eu de différence significative dans les taux de cytokines évaluées dans

les deux groupes. Du début de l'étude jusqu'au jour 3, une corrélation positive a été trouvée entre la concentration de TNF- α et la température corporelle ($P = 0,007$).

Table 1

Caractéristiques de base des enfants ayant une infection à *P.falciparum*.

	Total	Ibuprofen	Placebo	P
Number of children	50	25	25	-
Median age in years	4	4	5	NS ^a
Gender (F/M)	18/32	10/15	8/17	NS
Mean temperature (°C)	38.4	38.1	38.7	NS
[SD]		1.1	1.0	1.0
Median parasite density	62 250	546 000	678 000	NS
[range]	[20 000-200 000]	[20 000-200 000]	[20 000-200 000]	
Median hemoglobin (g/dL) [range]	9.7 [7.1]	9.6 [7.1-10.1]	9.7 [7.1-11.8]	NS
Median hematocrit % [range]	29.8 [20.9-38.3]	29.9 [21.0-38.3]	29.7 [20.9-37.9]	NS

^a Non-significant.

Table 2

Taux plasmatiques de cytokine évalués à différents temps dans le groupe placebo (n = 25) et dans le groupe ibuprofen (n = 22)[§] d'enfants Gabonais au cours d'une infection non compliquée à *P. falciparum*.

Cytokines	Drugs	0 hours	8 hours	16 hours	24 hours	48 hours
TNF- α [*]	Ibuprofen	131.30	27.261	20.57	121.62	127.9
		[6.05-332.71]	[5.99-217.28]	[10.91-293.2]	[8.27-266.04]	[7.98-301.85]
		NS ^{&}	NS	NS	NS	NS
	Placebo	124.21	14.04	33.11	126.55	111.98
		[7.11-326.0]	[6.72-306.79]	[7.8-261-72]	[6.48-292.59]	[6.044-295.67]
TNF-RI [§]	Ibuprofen	3.667	4.134	3.497	3.383	2.929
		[2.44-30]	[1.85-21.42]	[1.95-23.99]	[2.05-23.54]	[2.14-31.41]
		NS	NS	NS	NS	NS
	Placebo	5.803	4.488	3.535	3.976	4.444
		[4.39-24.55]	[2.81-29.35]	[2.53-22.65]	[2.93-10.06]	[1.83-19.53]
TNF-RII [§]	Ibuprofen	34.935	21.42	32.50	23.14	26.14
		[7.46-50.22]	[5.07-51.36]	[4.69-56.41]	[6.087-51.94]	[11.01-56.28]
		NS	NS	NS	NS	NS
	Placebo	26.98	20.37	18.48	15.82	18.87
		[8.41-45.47]	[5.62-41-66]	[5.22-30.25]	[10.06-43.2]	[10.02-40.76]

[&] Non-significant; Wilcoxon/Kruskal-Wallis tests (rank sums); * pg/mL, median [interquartile range]; [§] ng/mL, median [interquartile range]; [§] Two children in the ibuprofen group were excluded for protocol violation (one for axillary temperature measurement, one for consecutive missing temperature values for 24 hours). One patient had convulsions 12 hours after the start of the antipyretic and quinine treatment, and was excluded from the study.

4. Discussion.

Le TNF- α est une cytokine capable de provoquer de sérieux dommages corporels s'il est produit en excès ou durant une période prolongée dans l'organisme. Dans cette étude placebo, contrôlée, et randomisée en double aveugle, réalisée chez de enfants Gabonais, de forts taux plasmatiques circulant de TNF- α ont été mesurés à l'inclusion. Ces taux élevés de TNF- α plasmatique étaient associés aux épisodes de fièvre au cours du paludisme [4,24]. Cette association statistique demeure significative après correction avec la parasitémie. Cette différence n'est pas non plus modifiée par les concentrations plasmatiques de sTNFR-I et de sTNFR-II. Ces données sont compatibles avec les études antérieures qui montrent que le TNF- α agit en médiateur de la fièvre au cours du paludisme. Cependant, elles ne sont pas en accord avec l'hypothèse selon laquelle les

protéines inhibitrices fixant le TNF- α joueraient un rôle important dans la tolérance clinique chez les enfants Africains ayant le paludisme.

Nous avons en effet trouvé qu'au cours du traitement contre le paludisme, que l'enfant ait reçu de l'ibuprofène ou du placebo, les taux des récepteurs solubles de TNF- α ne diffèrent pas significativement entre les enfants traités avec l'ibuprofène et ceux n'ayant reçu que le placebo. Cela nous ramène à notre question initiale de l'étude : « Est-ce que l'effet antipyrétique de l'ibuprofène influence la production de TNF ? ». L'ibuprofène est considéré comme fonctionnant en inhibant la cyclooxygénase (*i.e.* COX-1 et COX-2), de sorte qu'il inhiberait la synthèse des prostaglandines. Les activités antipyrétique et anti-inflammatoire de l'ibuprofène semblent être médiées principalement par l'inhibition de COX-2 [25]. Chez les patients souffrant du paludisme, les taux de récepteurs solubles de TNF- α et les concentrations de TNF- α immuno réactif sont étroitement corrélés [26,27]. Ces molécules réceptrices sont des antagonistes effectifs de TNF- α , étant donné leur capacité à former des complexes avec le ligand [28,29] ; de tels récepteurs ont été utilisés en immunothérapie [30].

De taux élevés de récepteurs solubles pourraient aussi refléter un grand clivage des récepteurs associés aux membranes, conduisant à la diminution du nombre de site de fixation favorisant potentiellement l'activité de TNF- α [31,32]. Toutefois, les récepteurs de TNF- α ont été montrés comme étant impliqués dans le paludisme cérébral, alors que les enfants étudiés dans cette étude avaient tous un paludisme simple. Une très forte protection contre le paludisme cérébral a été démontrée chez des souris TNFR-II^{-/-} mais pas chez des souris TNFR-II^{+/+}, et cette protection a été rapportée comme étant associée à un défaut de la régulation de ICAM-1 [33].

Une étude réalisée chez des enfants Ghanéens a révélé une protection fortement corrélée aux concentrations sériques de TNF- α et des récepteurs solubles de TNF- α seulement chez les patients ayant un paludisme simple. Toutefois, malgré l'association entre la concentration de TNF- α et la fièvre, dans cette étude réalisée au Ghana, aucune différence n'était observée dans le taux des récepteurs solubles de TNF- α [9]. Dans la présente étude, nous avons détecté le sTNFR-I et le sTNFR-II en ng/mL et cet intervalle

correspond à, de 100 à 1000 fois d'excès molaire au-delà des taux de TNF- α observés chez des enfants souffrant du paludisme.

Nos résultats suggèrent que le TNF induisant l'activité *in vivo* pourrait être affecté par le traitement contre le paludisme, qu'un traitement antipyrétique soit également pris ou non au même moment. Il est aussi possible que la capacité du parasite à induire la production de TNF- α soit influencée par des facteurs intrinsèques de l'hôte, telle la réponse inflammatoire aigue en particulier puisque le traitement antipyrétique n'a pas d'effet sur la clairance de la fièvre chez les enfants souffrant du paludisme simple.

En conclusion, nos données montrent qu'il y a une association entre la fièvre et la concentration plasmatique de TNF- α mais démontre aussi que l'effet antipyrétique de l'ibuprofène ne peut pas s'expliquer par les modifications dans la production de cette cytokine. D'autres études sont ainsi nécessaires pour déterminer l'étape du processus inflammatoire à laquelle l'ibuprofène exercerait ses principaux effets anti-inflammatoire et antipyrétique.

Remerciements

Nous remercions tous les enfants qui ont participé à cette étude. Nous remercions également Mr. Anselme Nzengue, Drs Sunny Oyakhirome et Akim Adegnika pour leur aide. Grand merci au Dr. Lipp et à son groupe de l'Université de Tübingen en Allemagne qui ont conditionné et offert l'ibuprofène et le placebo. Nous remercions également Eric Kendjo pour les analyses statistiques ainsi que Brigitte Migombet, Ariane Ntseyi et marcel Nkeyi pour leur assistance technique. Cette étude a reçu le support financier de l'UNICEF/United Nations Development Program/World Bank/World Health Organization Special Program for Research and Training in Tropical Diseases (Grant A50073). Ce travail a été réalisé avec la collaboration active des Drs. Pierre-Blaise Matsiégui, Michel A. Missinou et Saadou Issifou, Merci.

Références bibliographiques

1. Munday S. 2007. Review of intermittent preventive treatment for malaria in infants and children. *J. Paediatr. Child. Health* 43:424.
2. Kern P, Hemmer CJ, Damme JV, Gruss HJ, Dietrich M. 1989. Elevated tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 serum levels as markers for complicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Am. J. Med.* 87:139.
3. Kern P, Hemmer CJ, Gallati H. et al. 1992. Soluble tumor necrosis factor receptors correlate with parasitemia and disease severity in human malaria. *J. Infect. Dis.* 166:930.
4. Kremsner PG, Winkler S, Brandts C. et al. 1995. Predictions of accelerated cure in *Plasmodium falciparum* malaria by the elevated capacity of tumor necrosis factor production. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 53(5):532.
5. Richards AL. 1997. Tumor necrosis factor and associated cytokines in the host's response to malaria. *Int. J. Parasitol.* 27:1251.
6. Day NP, Hien TT, Schollaardt T. et al. 1999. The prognostic and pathophysiologic role of pro- and anti-inflammatory cytokines in severe malaria. *J. Infect. Dis.* 180:1288.
7. Mordmüller BG, Metzger WG, Juillard P, et al. 1997. Tumor necrosis factor in *Plasmodium falciparum* malaria: high plasma level is associated with fever, but high production capacity is associated with rapid fever clearance. *Eur. Cytokine Netw.* 8:29.
8. McGuire W, D'Alessandro U, Stephens S, et al. 1998. Levels of tumour necrosis factor and soluble TNF receptors during malaria fever episodes in the community. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 92:50.
9. Akanmori BD, Kurtzhals JA, Goka BQ, et al. 2000. Distinct patterns of cytokine regulation in discrete clinical forms of *Plasmodium falciparum* malaria. *Eur. Cytokine Netw.* 11:113.
10. Gimenez F, Barraud de Lagerie S, Fernandez C, Pino P, Mazier D. 2003. Tumor necrosis factor alpha in the pathogenesis of cerebral malaria. *Cell. Mol. Life. Sci.* 60:1623.
11. Lucas R, Juillard P, Decoster E, et al. 1997. Crucial role of tumor necrosis factor (TNF) receptor 2 and membrane-bound TNF in experimental cerebral malaria. *Eur. J. Immunol.* 27:1719.
12. Molyneux ME, Engelmann H, Taylor TE, et al. 1993. Circulating plasma receptors for tumour necrosis factor in Malawian children with severe falciparum malaria. *Cytokine* 5:604.
13. Piguet PF, Kan CD, Vesin C. 2002. Role of the tumor necrosis factor receptor 2 (TNFR2) in cerebral malaria in mice. *Lab. Invest.* 82:1155.
14. Fried M, Muga RO, Misore AO, Duffy PE. 1998. Malaria elicits type 1 cytokines in the human placenta: IFN-gamma and TNF-alpha associated with pregnancy outcomes. *J. Immunol.* 160:2523.
15. Moorman Am, Sullivan AD, Rochford RA, et al. 1999. Malaria and pregnancy: placental cytokine expression and its relationship to intrauterine growth retardation. *J. Infect. Dis.* 180:1987.
16. Taverne J. 1990. Two soluble antigens of *Plasmodium falciparum* induce tumor necrosis factor release from macrophages. *Infect. Immun.* 58:2923.
17. Engelmann H, Aderka D, Rubinstein M, Rotman D, Wallach D. 1989. A tumor necrosis factor-binding protein purified to homogeneity from human urine protects cells from tumor necrosis factor toxicity. *J. Biol. Chem.* 264:11974.
18. Aderka D. 1996. The potential biological and clinical significance of the soluble tumor necrosis factor receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.* 7:231.
19. Carpentier I, Coornaert B, Beyaert R. 2004. Function and regulation of tumor necrosis factor type 2. *Curr. Med. Chem.* 11:2205.
20. Matsiegui PB, Missinou MA, Necek M, Issifou S, Lell B, Kremsner PG. Antipyretic effect of ibuprofen in Gabonese children with uncomplicated falciparum malaria: a randomized, double-blind, placebo controlled trial. Submitted.
21. Wildling E, Winkler S, Kremsner PG, et al. 1995. Malaria epidemiology in the province of the Moyen Ogooué, Gabon. *Trop. Med. Parasitol.* 46:77.

22. Sylla EH, Kun JF, Kremsner PG. 2000. Mosquito distribution and entomological inoculation rates in three malaria-endemic areas in Gabon. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 94:652.
23. Planche T, Krishna S, Kombila M et al. 2001. Comparison of methods for the rapid laboratory assessment of children with malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 65 (5): 599.
24. Brandts CH, Ndjavé M, Graninger W, Kremsner PG. 1997. Effect of paracetamol on parasite clearance time in *Plasmodium falciparum* malaria. *Lancet* 350(9093):1776.
25. Renda G, Tacconelli S, Capone ML, Sacchetta D, Santarelli F, et al. 2006. Celecoxib, ibuprofen and antiplatelet effect of aspirin in patients with osteoarthritis and ischemic heart disease. *Clin. Pharmacol. Ther.* 80(3): 264.
26. Kern P, Hemmer CJ, Gallati H, Neifer S, Kremsner P, and Dietrich M, Porzolt F. 1992. Soluble tumor necrosis factor receptors correlate with parasitemia and disease severity in human malaria. *J. Infect. Dis.* 166(4):930.
27. Molyneux ME, Engelmann H, Taylor TE, Wirima JJ, Aderka D, Wallach D, Grau GE. 1993. Circulating plasma receptors for tumor necrosis factor in Malawian children with severe falciparum malaria. *Cytokine* 5(6):604.
28. Engelberts I, Stephens S, Francot GJM, van der Linden CJ, Buurman WA. 1991. Evidence for different effects of soluble TNF-receptors on various TNF measurements in human biological fluids. *Lancet* 338:515.
29. Lesslauer W, Tabuchi H, Gentz R, Brockhaus M, Schlaeger EJ, Grau G, Piguet PF, Pointaire P, Vassali P, Loetscher H. 1991. Recombinant soluble tumor necrosis factor receptor proteins protect mice from lipopolysaccharide-induced lethality. *Eur. J. Immunol.* 21(11):2883.
30. Ashkenazi A, Marsters SA, Capon DJ, Chamow SM, Figari IS, Pennica D, Goeddel DV, Palladino MA, Smith DH. 1991. Protection against endotoxic shock by a tumor necrosis factor receptor immunoadhesin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88(23):10535.
31. Van Zee KJ, Kohno T, Fisher E, Rock CS, Moldawer LL, Lowry SE. 1992. Tumor necrosis factor soluble receptors circulate during experimental and clinical inflammation and can protect against excessive tumor necrosis factor alpha *in vitro* and *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89(11):4845.
32. Schleiffenbaum B, Olgiati L, Fehr J. 1992. TNF-specific deactivation of granulocytes *in vivo* a possible mechanism of self protection. *Eur. J. Haematol.* 49(5):239.
33. Medana IM, Hunt NH, Chaudhri G. 1997. Tumor necrosis factor- expression in the brain during fatal murine cerebral malaria: evidence for production by microglia and astrocytes. *Am. J. Pathol.* 150:1473.
34. Akanmori BD, Kurtzhals JA, Goka BQ, Adabayeri V, Ofori F, Nkrumah FK, Behr C, Hviid L. 2000. Distinct patterns of cytokine regulation in discrete clinical forms of *Plasmodium falciparum* malaria. *Eur. Cytokine Netw.* 167:5928.
35. Lell B, Sovric M, Schmid D, Luckner D. et al. 2001. Effect of antipyretic drugs in children with malaria. *Clin. Infect. Dis.* 32(5):838.