

UTILIDAD DEL DÍMERO D EN LA EVALUACIÓN DE LA FIBRINÓLISIS POR
DENGUE EN LA POBLACIÓN PEDIÁTRICA DEL DEPARTAMENTO DEL HUILA
– COLOMBIA.

JHON FERNEY CERQUERA ROJAS
CLAUDIA LILIANA LOSADA GÓMEZ

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE SALUD
ESPECIALIZACION EN PEDIATRIA
NEIVA- HUILA
2012

UTILIDAD DEL DÍMERO D EN LA EVALUACIÓN DE LA FIBRINÓLISIS POR
DENGUE EN LA POBLACIÓN PEDIÁTRICA DEL DEPARTAMENTO DEL HUILA
– COLOMBIA

JHON FERNEY CERQUERA ROJAS
CLAUDIA LILIANA LOSADA GÓMEZ

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Médico
Especialista en Pediatría

Asesora
Dra. DORIS MARTHA CECILIA SALGADO DE PANQUEBA
Médico Pediatra
Coordinadora línea de investigación en Dengue.

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE SALUD
ESPECIALIZACIÓN EN PEDIATRÍA
NEIVA- HUILA
2012

Nota de aceptación:

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Neiva, Mayo del 2012

DEDICATORIA

A nuestras familias a los que dedicamos cada una de las noches en vela, los esfuerzos y los triunfos que han llegado a nuestras vidas.

A nuestros padres que han sabido brindarnos su amor, atención y nos han acompañado en este largo proceso.”

CLAUDIA LILIANA
JHON FERNEY

“No hay monstruos mayores que aquellos en los que la inteligencia esta divorciada del corazón”

Jóse Martí

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos:

A la Doctora Doris Salgado de Panqueba, Medico Pediatra Coordinadora línea de investigación en Dengue, por su dedicación, paciencia, sus valiosos aportes en aras del conocimiento y en especial del día a día para mejorar nuestro interés por la investigación pediátrica.

A todos los docentes por contribuir en nuestra formación profesional.

A todos los niños y niñas que participaron en el estudio y a los que no lo hicieron, por se como son, por ser niños, por enseñarnos todo lo que nos han enseñado, por dibujar una sonrisa en su rostro con la sencillez y dulzura propia de su edad, por ser esos pequeños ángeles, la razón de ser de este trabajo.

Al postgrado de Pediatría de la Universidad Surcolombiana y al Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo, por permitirnos realizar una preparación íntegra como pediatras para estar al servicio de todos los niños.

A todos gracias.....

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	15
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	18
3. OBJETIVOS	19
3.1 OBJETIVO GENERAL	19
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	19
4. METODOLOGIA	20
4.1 TIPO DE ESTUDIO	20
4.2 LUGAR	20
4.3 POBLACION Y MUESTRA	20
4.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	20
4.4.1 Criterios de inclusión	21
4.4.2 Criterios de exclusión	21
5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	22
5.1 EDAD	22
5.2 GÉNERO	22
5.3 PROCEDENCIA	22
5.4 NÚMERO DE PLAQUETAS	23
5.5 VALOR DEL DIMERO D	23
5.6 FIEBRE	23
5.7 SANGRADO	23
5.8 SEVERIDAD	24
6. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS	28

	Pág.	
6.1	TOMA DE LA MUESTRA PARA REALIZACIÓN DE DÍMERO D	28
6.2	TOMA DE LA MUESTRA PARA REALIZACIÓN DE FIBRINOGENO	29
6.2.1	Aplicación	29
6.2.2	Principio	29
6.2.3	Valores esperados	29
6.3	PRUEBAS DE COAGULACIÓN	30
6.3.1	Tiempo de protrombina (p.t ó tiempo de QUICK)	30
6.3.2	Tiempo de tromboplastina parcial activada (KPTT, PTT, APTT)	31
7.	MARCO TEORICO	32
7.1	GENERALIDADES	32
7.1.1	Endotelio vascular	32
7.2	HEMOSTASIA	34
7.3	FISIOLOGÍA DE LA COAGULACIÓN	35
7.3.1	La hemostasia primaria	35
7.3.2	La coagulación o hemostasia secundaria	36
7.3.3	Sistema hemostático	36
7.3.4	Fibrinólisis	38
7.4	DÍMERO D (DD)	43
7.4.1	Métodos de determinación del Dímero-D en plasma	44
7.4.2	Valores normales de DÍMERO D	46
7.4.3	Un análisis muy sensible pero poco específico	46
7.5	PRUEBAS DE COAGULACIÓN	47
7.6	RECUESTO DE PLAQUETAS	48
7.7	GENERALIDADES DE LA INFECCIÓN POR VIRUS DENGUE	49
7.7.1	Historia	50
7.7.2	Epidemiología	50
7.7.3	Situación en las últimas décadas	53
7.7.4	La epidemiología del dengue en las Américas, durante los últimos tres décadas	53
7.7.5	Serotipos del dengue	56
7.7.6	El vector	58
7.7.7	El virus dengue	60
7.7.8	Fisiopatología del dengue	62
7.7.9	Manifestaciones clínicas	65

		Pág.
7.7.10	Dengue y coagulación	70
7.7.10.1	Inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina (TAFI)	71
8.	INSTRUMENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN	75
9.	CONSIDERACIONES ÉTICAS	76
10.	CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	77
11.	RESULTADOS	78
12.	DISCUSION	86
13.	CONCLUSIONES	88
	BIBLIOGRAFIA	89

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Origen molecular del Dímero D	28
Figura 2	Esquema-resumen de la función endotelial.	33
Figura 3	Etapas del modelo celular de la coagulación	38
Figura 4	Esquema simplificado del funcionamiento del sistema fibrinolítico	41
Figura 5	Situación del Dengue en las Américas, 2011	51
Figura 6	Situación del Dengue en las Américas, 2012	52
Figura 7	Casos de Dengue y Dengue hemorrágico en las Américas durante 1980 – 2007	54
Figura 8	Incidencia del Dengue en las Américas, 1980-2007	55
Figura 9	A. Países con mayor número de casos de Dengue en las Américas 1980-2007. B. Países con mayor número de casos de Dengue hemorrágico en las Américas 1980-2007.	56
Figura 10	Porcentaje de países reportando los serotipos de dengue por año a la OPS en la región de las Américas, 1995 – 2007	57
Figura 11	Aedes Aegypti	59
Figura 12	Inmunopatogénesis del Dengue	62
Figura 13	Manifestaciones hemorrágicas del Dengue	66
Figura 14	Curso de la enfermedad del Dengue	68
Figura 15	Clasificación del Dengue, OMS 2009	69

		Pág.
Figura 16	Clasificación de casos de Dengue sugerida y niveles de gravedad	69
Figura 17	Activación del TAFI y su acción sobre la cascada de la fibrinólisis	72
Figura 18	Gráfica de Genero	78
Figura 19	Histograma de edad	79
Figura 20	Distribución por Grupo de Edad	79
Figura 21	Histograma de Plaquetas	81
Figura 22	Histograma de Dimero D	81

LISTA DE CUADROS

		Pág.
Cuadro 1	Operacionalización de las variables	25
Cuadro 2	Características de los principales reguladores del sistema fibrinolítico	42
Cuadro 3	Situaciones en las que la concentración plasmática de DD esta elevada	44
Cuadro 4	Métodos de determinación de Dímero-D	45

LISTA DE TABLA

		Pág.
Tabla 1	Operacionalización de las variables	80
Tabla 2	Matriz de Correlaciones	82
Tabla 3	Comparación de Indicadores por Grupos de Edad	82
Tabla 4	Comparación de Indicadores por Presencia de Sangrado	84
Tabla 5	Comparación de Indicadores por Diagnóstico Final	85

RESUMEN

A nivel mundial, el Dengue se encuentra entre las más importantes infecciones virales que afectan a los seres humanos.

La característica patognomónica del Dengue es un aumento de la permeabilidad vascular sistémica que resulta en una reducción del volumen plasmático intravascular, con progresión a choque hipovolémico en los casos graves. Trombocitopenia y Coagulopatía también son características prominentes de la infección sintomática.

En los niños, las manifestaciones hemorrágicas menores son comúnmente observadas, pero la hemorragia importante es inusual, excepto en asociación con choque.

La patogenia de la hemorragia asociada con Dengue sigue siendo poco conocida, y hay conflicto de opiniones en cuanto a si se produce Coagulación Intravascular Diseminada (CID) y si se afectada la Fibrinólisis.

La documentación de la historia natural de la enfermedad, junto con nuevos esfuerzos para entender la base de los mecanismos que predisponen a la hemorragia, son cada vez más importantes, ya que el desarrollo precoz de Trombocitopenia o Coagulopatía pueden ser predictivos de complicaciones posteriores.

Se realizó un estudio descriptivo prospectivo anidado en un Proyecto denominando MARCADORES DE DENGUE GRAVE IMPORTANCIA Y POSIBLE USO PARA INTERVENCIÓN CLÍNICA, cuyo objetivo principal es determinar la relación entre los niveles de Dímero D y el comportamiento de la coagulación en los pacientes con Dengue hospitalizados en la unidad de Infectología del Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de la ciudad de Neiva-Huila-Colombia en el periodo comprendido del 1 de Marzo del 2011 al 31 de Marzo 2012, y en el cual se encontró como conclusión principal que el sangrado en la infección por el virus Dengue no es secundario a una Coagulación Intravascular Diseminada.

Palabras claves. Dengue, Hemorragia, Coagulación intravascular Diseminada (CID), Trombocitopenia, Fibrinólisis, Dímero D.

ABSTRACT

Globally, the dengue D is among the most important viral infections that affect humans.

The pathognomonic feature of Dengue is an increase in systemic vascular permeability resulting in a reduction of intravascular plasma volume, with progression to hypovolemic shock in severe cases. T and C oagulopatía trombocitopenia are also prominent features of symptomatic infection.

In children, the minor hemorrhagic manifestations are commonly observed, but major bleeding is unusual except in association with shock.

The pathogenesis of bleeding associated with D engue remains poorly understood, and there are conflicting opinions as to whether there is disseminated intravascular coagulation (DIC) and whether it affected the fibrinolytic system.

The documentation of the natural history of disease, along with new efforts to understand the basis of the mechanisms that predispose to bleeding, are increasingly important as the early development of thrombocytopenia or C oagulopatía may be predictive of later complications.

We performed a prospective descriptive and studio nestled in a project calling GRAVE MARKERS OF DENGUE IMPORTANCE AND POSSIBLE ACTION FOR CLINICAL USE, whose main objective is d etermining the relationship between D-dimer levels and the behavior of the coag ulation in patients with D engue hospitalized in the Infectious Diseases Unit, University Hospital Hernando Moncaleano Perdomo of the city of Neiva - Huila - Colombia in the period from 1 March 2011 to March 31, 2012, and which was found as t he main conclusion that bleeding in Dengue virus infection is not secondary to DIC.

Keywords. Dengue Haemorrhage, Disseminated intravascular coagulation (DIC), thrombocytopenia, fibrinolysis, D-dimer.

INTRODUCCION

La infección por el virus del Dengue afecta a todos los grupos de edad, produciendo un espectro de condiciones clínicas que pueden ir desde leves hasta severas, conduciendo a estados de choque, compromiso de órganos y sangrados masivos.

Es una patología re-emergente en las últimas 4 décadas. Se considera al Dengue como la enfermedad viral de transmisión vectorial más importante en el hemisferio para el siglo XXI, con el agravante que son los países de las Américas (especialmente la región Andina) quienes aportan el mayor número de casos en los últimos 10 años.

En las formas severas, la circulación se encuentra comprometida y el paciente puede entrar en choque hipovolémico, e incluso morir sin el debido manejo. Los niños con dengue severo son particularmente susceptibles al choque, con la más alta tasa de mortalidad en los lactantes.

Las anomalías de la coagulación durante la infección por dengue siguen siendo poco conocidas, a pesar del crecimiento global de esta infección; en el siguiente trabajo se pretende estudiar la utilidad del Dímero D como indicador de severidad del Dengue y ser la puerta de entrada a nuevas investigaciones que permitan completar la caracterización hematológica de esta enfermedad que afecta predominantemente a la población infantil.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Durante la segunda mitad del siglo XX el dengue surgió como un importante problema de salud pública de la zona tropical del mundo.

Las epidemias de la enfermedad con mayor gravedad son cada vez más frecuentes, y el virus y sus mosquitos vectores comenzaron a propagarse a nuevas zonas geográficas.

A nivel mundial, el dengue se encuentra entre las más importantes infecciones virales que afectan a los seres humanos.

La infección puede ser asintomática o puede dar lugar a un espectro de patrones clínicos de la enfermedad que van desde la Fiebre indiferenciada a un cuadro de Dengue severo.

Aunque los adultos pueden experimentar complicaciones, la carga de la enfermedad grave recae principalmente en los niños, y en muchos países de Asia el dengue encabeza las listas entre las principales causas de hospitalización y muerte en la población pediátrica.

La característica patognomónica del Dengue es un aumento de la permeabilidad vascular sistémica que resulta en una reducción del volumen plasmático intravascular, con progresión a choque hipovolémico en los casos graves. Sin embargo, el proceso patológico se revierte espontáneamente después de unos días y la mayoría de los pacientes se recuperan con tratamiento de soporte apropiado.

Trombocitopenia y coagulopatía también son características prominentes de la infección sintomática.

En los niños, las manifestaciones hemorrágicas menores son comúnmente observadas, pero la hemorragia importante es inusual, excepto en asociación con choque.

La patogenia de la hemorragia asociada con Dengue sigue siendo poco conocida, y hay conflicto de opiniones en cuanto a si se produce Coagulación Intravascular Diseminada (CID) y si se afectada la Fibrinólisis.

En la mayoría de los estudios hasta la fecha se han inscrito números relativamente pequeños de pacientes, centrándose a menudo en pacientes con enfermedad severa en las cuales la disfunción secundaria de múltiples órganos y sistemas confunde los resultados probables. Existen pocos estudios que documenten los cambios en los parámetros hemostáticos en todo el espectro de la enfermedad en conjunto con la evolución de las manifestaciones clínicas en el tiempo.

La documentación de la historia natural de la enfermedad, junto con nuevos esfuerzos para entender la base de los mecanismos que predisponen a la hemorragia, son cada vez más importantes, ya que el desarrollo precoz de trombocitopenia o coagulopatía pueden ser predictivos de complicaciones posteriores.

Por último, la mayoría de grupos han usado el sistema de clasificación inicial de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la determinación de la gravedad; y es cada vez más evidente que existe una superposición entre las diferentes categorías diagnósticas definidas por este sistema y que la clasificación de los pacientes no siempre es sencilla.

2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe relación entre los niveles de Dímero D y la Fibrinólisis en pacientes pediátricos con Dengue en el Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de Neiva – Huila - Colombia?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la relación entre los niveles de Dímero D y el comportamiento de la coagulación en los pacientes con Dengue hospitalizados en la unidad de Infectología del Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de la ciudad de Neiva-Huila-Colombia en el periodo comprendido del 1 de Marzo del 2011 al 31 de Marzo 2012.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Correlacionar niveles de Dímero D y presencia de sangrado en Dengue.

Cuantificar niveles de Dímero D y correlacionar con la gravedad de la infección por Dengue.

Establecer si existe relación entre niveles de y Plaquetas con el sangrado y la gravedad de la infección por Dengue.

Cuantificar niveles de Fibrinógeno y correlacionar con el sangrado y la gravedad de la infección por Dengue.

4. METODOLOGIA

4.1 TIPO DE ESTUDIO

La presente investigación es un “Estudio descriptivo prospectivo anidado en un Proyecto denominando MARCADORES DE DENGUE GRAVE IMPORTANCIA Y POSIBLE USO PARA INTERVENCIÓN CLÍNICA”.

En el estudio se registrara la utilidad del Dímero D en la evaluación de la Fibrinólisis en Dengue durante el periodo comprendido del 1 de Marzo de 2011 al 31 de Marzo 2012.

4.2 LUGAR

Servicio de Pediatría de la E.S.E. Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de la ciudad de Neiva-Huila-Colombia.

4.3 POBLACION Y MUESTRA

La población a estudio son los niños del Departamento del Huila que padecen de infección por virus Dengue y requieren Hospitalización en la E.S.E. Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de la ciudad de Neiva-Huila-Colombia.

4.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Se incluirán todos los casos de Dengue con signos de alarma y Dengue severo que acudan a la E.S.E. Hospital Universitario “Hernando Moncaleano Perdomo” en el periodo comprendido entre el 1 de Marzo del 2011 al 31 de Marzo 2012 y que teniendo en cuenta la definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2010 cumplan con los siguientes criterios:

4.4.1 Criterios de inclusión

- Vive o procede de zona endémica (precisando que el Departamento del Huila y la mayor parte del territorio Colombiano es considerada en su totalidad como zona endémica).
- Fiebre menor o igual a 5 días.
- Dos de los síntomas característicos (Dolor retro-ocular o cefalea, mialgias, erupción maculopapular, leucopenia, prueba de torniquete positiva).

4.4.2 Criterios de exclusión

- El paciente no acepta participar en el estudio.
- Imposibilidad del seguimiento.
- Enfermedad del colágeno o crónica o neoplásica.
- Cardiopatía congénita.
- Uso de medicamentos que alteran la coagulación.

Los datos obtenidos del paciente serán consignados en un formulario previamente diseñado (ver anexo A), que se diligenciará por completo en el servicio de Pediatría del Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de Neiva y llevados a una base de datos para luego ser procesados en SPSS versión 15.

5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Las variables tenidas en cuenta en este estudio son las siguientes (Ver Cuadro 1)

5.1 EDAD

Definida como la cantidad de años, meses y días cumplidos a la fecha de aplicación del estudio.

Dimensión: Número de años cumplidos.

Indicador: Cálculo a partir de la fecha de nacimiento en su documento de identidad.

Tipo de variable: Nominal.

5.2 GÉNERO

Definición conceptual: Determinación del género.

Dimensión: Masculino, Femenino.

Indicador: Variable dicotómica a partir del género.

Instrumento: Examen físico.

Tipo de variable: Dicotómica.

5.3 PROCEDENCIA

Definición conceptual: Determinación del lugar donde vive el paciente.

Dimensión: Localización geográfica del lugar de procedencia.

Indicador: Lugar geográfico utilizando mapas locales.

Tipo de variable: Cualitativa.

5.4 NÚMERO DE PLAQUETAS

Número de plaquetas que se encontró en la muestra de sangre, indicado en unidades por $10^9/L$.

Variable: Cuantitativa nominal.

Valor normal: 150.000 y 450.000.

5.5 VALOR DEL DIMERO D

Se definió la prueba como positiva cuando se alcanzo valores superiores a 500 $\mu g/l$. No se encuentran datos pediátricos

5.6 FIEBRE

Variable Cuantitativa Continua.

Indicador: Variable temperatura en grados Celsius (Escala de intervalos).

Dimensión: Temperatura mayor a 38,3 °C es considerado fiebre.

5.7 SANGRADO

El sangrado se clasifica en una de 3 categorías;

- Los pacientes con sólo petequias o hematomas espontáneos en los sitios de punción venosa se considera que tienen SANGRADO LEVE.

- Los pacientes con hemorragias de las mucosas que no afecten el hematocrito, se considera tienen SANGRADO MODERADO.
- En pacientes con epistaxis o hemorragia gastrointestinal suficiente como para causar una disminución en el hematocrito o justificar una transfusión se consideró SANGRADO SEVERO (1).

5.8 SEVERIDAD

Según la OMS 2010 se define Dengue severo cuando se presenta durante la enfermedad;

- Escape severo de plasma que lleva a:

Choque.

Acumulación de fluidos y distrés respiratorio.

- Sangrado severo según evaluación clínica.

- Daño severo de órgano/s:

Hígado: AST o ALT \geq 1000.

SNC: Alteración del sensorio.

Corazón y otros órganos.

Cuadro 1. Operacionalización de las variables.

VARIABLE	DEFINICIÓN	SUBVARIABLES	INDICADORES CATEGORÍAS	NIVEL DE MEDICIÓN	ÍNDICE
Diagnóstico clínico de infección por virus Dengue	Incluye criterios epidemiológicos, clínicos y de laboratorio: La presencia de los dos o tres primeros criterios clínicos con los de laboratorio son suficientes para establecer el diagnóstico.	Criterio Epidemiológico: Procedencia de área endémica de Dengue y altas tasas de infestación por Aedes Aegypti.	Si o No	Nominal	Porcent aje
		Criterios Clínicos: -Fiebre continua y alta de 2 a 7 días de duración.	Si o No	Nominal	Porcent aje
		-Manifestaciones hemorrágicas: petequias, equimosis, epistaxis, gingivorragias, sangrado de tracto gastrointestinal, o por lo menos prueba de torniquete positiva.	Si o No	Nominal	Porcent aje
		-Hepatomegalia	Si o No	Nominal	Porcent aje
		-Choque	Si o No	Nominal	Porcent aje
		Criterios de laboratorio -Plaquetas menos de 100.000 por ml.	Si o No	Nominal	Porcent aje
		Hemoconcentración: Hematocrito aumentado por lo menos en un 20%.	Si o No	Nominal	Porcent aje
		LEVE: Pacientes con sólo petequias o hematomas espontáneos en los sitios de punción venosa.	Si o No	Nominal	Porcent aje
			Si o No	Nominal	Porcent

Clasificación del Sangrado		MODERADO: Pacientes con hemorragias de las mucosas que no afecten el hematocrito.			aje
		SEVERO: Pacientes con epistaxis o hemorragia gastrointestinal suficiente como para causar una disminución en el hematocrito o justificar una transfusión.	Si o No	Nominal	Porcentaje
Diagnóstico serológico de infección por virus Dengue	Presencia de antígeno viral: proteína no estructural - NS1- en muestras de fase aguda de la enfermedad.		Si o No	Nominal	Porcentaje
	Presencia de Anticuerpos tipo IgM contra antígenos virales específicos del virus Dengue.		Si o No	Nominal	Porcentaje
Diagnóstico serológico de infección por otros	Presencia anticuerpos tipo IgM contra antígenos bacteriano de la leptospira.		Si o No	Nominal	Porcentaje

agentes que pueden causar disfunción hepática	Presencia de anticuerpos tipo IgM contra antígenos virales de la hepatitis A.		Si o No	Nominal	Porcentaje
Infección primaria o secundaria por virus dengue	Presencia de parámetros clínicos susceptibles de infección acorde con los criterios OMS	Infección primaria: Menos de 4 veces los títulos IgG 2ª muestra	Si o No	Nominal	Porcentaje
		Infección secundaria: Aumento 4 veces los títulos IgG en 2ª muestra, comparado con los títulos obtenidos en la primera muestra	Si o No	Nominal	Porcentaje
Signos y síntomas	Manifestaciones clínicas o paraclínicas de infección por virus dengue	Hepatomegalia	Medida en cm abajo del reborde costal derecho	Razón	Porcentaje
		Fiebre	> 37.5°C (Si o No)	Nominal	Porcentaje
		Petequias	Si o No	Nominal	Porcentaje
		TA	TAS/TAD mmHg	Intervalo	Porcentaje
		Frecuencia respiratoria (Taquipnea)	Si o No (Fr > 18/min)	Nominal	Porcentaje
		Frecuencia cardíaca (Taquicardia)	Si o No (FC > 100/min)	Nominal	Porcentaje
		Llenado capilar	Si o No (> 2 seg.)	Nominal	Porcentaje
		Ascitis	Si o No	Nominal	Porcentaje
		Mialgias y Artralgias	Si o No	Nominal	Porcentaje

características de infección por virus dengue		Hemoconcentración (HCTO)	Si o No (> 20%)	Nominal	Porcentaje
		Hemoglobina, pérdida aguda	Si o No (< 8g/dl)	Nominal	Porcentaje
		Trombocitopenia	Si o No (Plaquetas < 150.000 U/ μ l)	Nominal	Porcentaje
		Marcadores de Miocarditis EKG y Ecocardiograma	Si o No	Nominal	Porcentaje
		Derrame pleural Rx de Tórax DLD	Si o No	Nominal	Porcentaje
		Elevación de la PCR	Si o No	Nominal	Porcentaje
Marcadores de Hemostasia	Determinación de sustancias sintetizadas en el hígado necesarias para determinar la función adecuada de este órgano	Prolongación del TP	Si o No	Nominal	Porcentaje
		Prolongación del TPT	Si o No	Nominal	Porcentaje
		Dímero D	Si o No	Nominal	Porcentaje
		Plaquetas	Si o No	Nominal	Porcentaje
		Fibrinógeno	Si o No	Nominal	Porcentaje
Factor epidemiológico	Características epidemiológicas inherentes a pacientes que padecen la infección por virus Dengue	Edad	Años o meses si < 1año	Razón	Porcentaje
		Género	Masculino o Femenino	Nominal	Porcentaje
		Procedencia	Municipio (área urbana o rural)	Nominal	Porcentaje
		Comuna	1,2,3,4....	Ordinal	Porcentaje
		Antecedente de infección por virus Dengue	Si/No	Nominal	Porcentaje
		Casos en la familia	Si/No	Razón	Porcentaje
		Antecedentes alérgicos	Si/No	Nominal	Porcentaje

6. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

6.1 TOMA DE LA MUESTRA PARA REALIZACIÓN DE DÍMERO D

Se extraerán 2 ml de sangre obtenida por punción venosa colectada en tubos con citrato; se centrifugaran y se separará el plasma en el Laboratorio Clínico de la E.S.E. Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo.

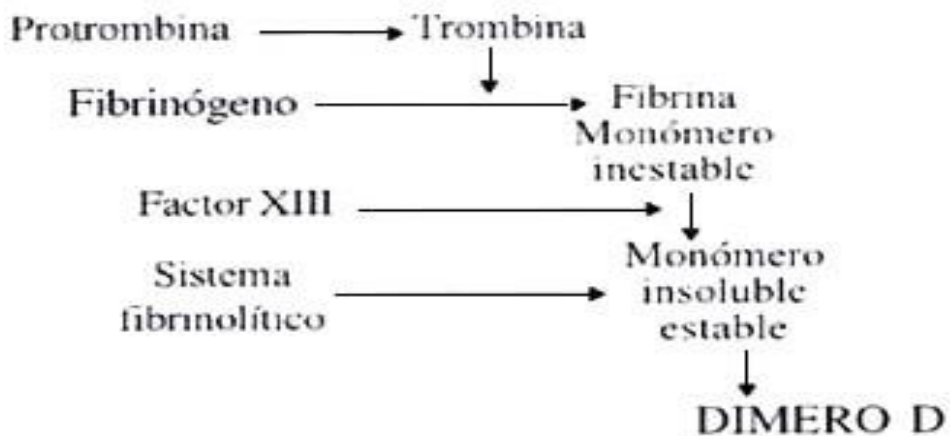
El reactivo utilizado será el Dimer test Ò, que es una prueba cuantitativa para el diagnóstico in vitro, teniendo en cuenta que el Dímero D (DD) es un producto de degradación de la fibrina formado durante la lisis de un trombo (Ver Figura 1).

Los reactivos vienen preparados para su uso:

- Reactivo 1: Tampón reactivo: Tampón TRIS, pH aprox. 7,5.
- Reactivo 2: Suspensión de partículas de látex recubiertas de anticuerpos monoclonales específicos de Dímero D (Ratón), estabilizada con albúmina bovina.

Las elevaciones de DD se detectan en plasma a la hora del inicio de la formación del trombo y dicho aumento suele persistir alrededor de una semana.

Figura 1. Origen molecular del Dímero D.



Fuente: Greemberg CS, DV Devine, Mc Crae KM. La medición de las concentraciones plasmáticas de fibrina dímero-D con el uso de anticuerpos monoclonales acoplados a partículas de látex. Am. J. Clin. Ruta de acceso. 1987; 87: 94-100.

La reacción de Fibrinólisis será demostrada por la aglutinación de látex sensibilizado con anticuerpos monoclonales para el Dímero D con el plasma en estudio, cuya mínima concentración demostrable es de 0,20 mg/L y el mayor valor considerado como normal es de 500 mg/dl.

Para la realización del control de calidad y verificación de los resultados se contará con plasmas controles positivos y negativos, los cuales se examinarán conjuntamente con las corridas de las muestras problemas.

6.2 TOMA DE LA MUESTRA PARA REALIZACIÓN DE FIBRINOGENO

Se extraerán 2 ml de sangre obtenida por punción venosa colectada en tubos con citrato; se centrifugarán y se separará el plasma en el Laboratorio Clínico de la E.S.E. Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo.

El Test para la determinación cuantitativa de Fibrinógeno será el Fibrinogen C por el método de Clauss, en plasma humano citratado en los Sistemas de Coagulación.

6.2.1 Aplicación. Tromboplastina cálcica de alta sensibilidad para la determinación simultánea del Tiempo de Protrombina (TP) y del Fibrinógeno (Fib), para la evaluación de la vía extrínseca de la coagulación y para el control de la Terapia Anticoagulante Oral en plasma humano citratado en los Sistemas de Coagulación IL.

6.2.2 Principio. El Test Fibrinogen C utiliza un exceso de trombina para convertir el fibrinógeno en fibrina en plasma diluido. A concentraciones altas de trombina y bajas de fibrinógeno el nivel de la reacción está en función de la concentración de fibrinógeno.

6.2.3 Valores esperados. Se ha realizado un estudio del rango de normalidad utilizando el reactivo. Fibrinogen C. Rango: 220 - 498 (mg/dL).

6.3 PRUEBAS DE COAGULACIÓN

6.3.1 Tiempo de protrombina (p.t ó tiempo de QUICK). Se define como el tiempo en segundos necesario para la formación del coágulo después de la adición de calcio y tromboplastina al plasma. La prueba mide la integridad de la vía extrínseca del sistema de coagulación sanguínea. La principal aplicación clínica de la prueba es el control de la anticoagulación oral con warfarínicos.

El plasma debe ser separado de las células lo más rápido posible y refrigerarlo si no es procesado inmediatamente, teniendo en cuenta que su procesamiento debe hacerse antes de cuatro horas después de haber tomado la muestra.

Técnica: Incubar 0.2 ml de plasma a 37 grados, agregar 0.2 ml de simplastin, mezclar y cronometrar hasta la formación de hilos de fibrina.

Valor de Referencia: De 10 a 13 segundos. En los recién nacidos es más largo y solo a partir de los seis meses el resultado es similar al de los adultos.

Hay tres formas de reportar los resultados en segundos, como una razón y como un índice:

En segundos: Se expresa en segundos y se compara con el resultado, también en segundos, del control que puede ser una persona *Normal*, o preferiblemente un plasma normal obtenido comercialmente. Esta forma de informe es la que se utiliza cuando la prueba es de tamiz.

Como una Razón: Se expresa como el producto de dividir el valor en segundos del tiempo de protrombina del paciente por el tiempo de protrombina del control. El valor de referencia oscila entre 0.8 y 1.2

Como un Índice: Debido a la variabilidad de la tromboplastina y de los instrumentos es imposible comparar los resultados del tiempo de protrombina, de un laboratorio a otro, cuando se utiliza el reporte en segundos o en razón. Para evitar este problema la Organización Mundial de la Salud estableció el INR el cual se obtiene utilizando el índice de sensibilidad internacional conocido como ISI el cual es asignado a cada lote de reactivos de acuerdo con el patrón internacional.

$INR = (\text{Tiempo de protrombina del paciente}) / (\text{Tiempo de protrombina del control})$

Un valor no coagulante mayor de 20 segundos en personas sin anticoagulación es crítico, y en personas anticoaguladas un valor por encima de tres veces el valor de referencia.

6.3.2 Tiempo de tromboplastina parcial activada (KPTT, PTT, APTT). Se define como el tiempo en segundos necesario para formación de coágulo después de la adición de calcio y fosfolípidos al plasma citratado pobre en plaquetas. El PTT mide la integridad de la vía intrínseca de la coagulación, encontrándose alargado en coagulación intravascular diseminada, disfibrinogenemias, afibrinogrenemia, hepatopatías severas, deficiencia de vitamina K; también es utilizado en control de la anticoagulación con heparina.

Técnica: Incubar por 2 minutos Reactivo, agregar 0.1 ml del plasma, incubar por 5 min, agregar el cloruro de calcio 0.1 ml y cronometrar hasta la formación del coagulo.

Valor de referencia: 25 a 39 segundos con una diferencia no mayor de 10 segundos con el control. En los recién nacidos es mas largo y solo a partir de los seis meses el resultado es similar al de los adultos.

Un valor es considerado crítico cuando el resultado es mayor de 70 segundos. El PTT reemplaza el tiempo de coagulación que en la actualidad no tiene ninguna utilidad clínica (2).

7. MARCO TEORICO

7.1 GENERALIDADES

La hemostasia es el conjunto de mecanismos fisiológicos que detienen espontáneamente la salida de sangre desde el espacio vascular mediante el cambio de estado físico. El cambio de estado líquido a sólido de la sangre se logra por medio de la formación de un coágulo, a través de una serie de reacciones bioquímicas, fundamentalmente enzimáticas. La hemostasia cumple las funciones de sellar provisionalmente el sitio de rotura vascular y de iniciar los mecanismos de reparación, por lo que es un fenómeno transitorio en el tiempo, autolimitado en su formación y confinado en su ubicación a una región específica. En 1956, el alemán Rudolf Virchow definió la tríada de Virchow, al establecer que los eventos trombóticos son el resultado de la interacción de tres elementos básicos: a) Los fenómenos hemodinámicos derivados del flujo sanguíneo, b) La sangre y sus componentes, responsables de los fenómenos hemorreológicos y de la hipercoagulabilidad y c) Los integrantes de la pared arterial que es donde se produce la lesión.

A continuación se mencionan las bases de los tres mecanismos implicados en la hemostasia: el vascular, el plaquetario y el plasmático.

7.1.1 Endotelio vascular. Los vasos tienen tres capas: la íntima, formada por endotelio, la media, constituida por músculo liso y la externa o adventicia, formada por tejido de sostén. La capa muscular, más desarrollada en las arteriolas, tiene la función de regular el flujo en los diversos territorios. Al producirse daño vascular, esta capa se contrae, con lo que disminuye el calibre del vaso y limita el flujo hacia la zona lesionada. La contracción es estimulada por la histamina, la serotonina, quininas y tromboxanos y es regulada por el óxido nítrico.

Por mucho, el papel preponderante de los vasos radica en el endotelio, que tiene la capacidad de sintetizar factores protrombóticos y antitrombóticos, profibrinolíticos y antifibrinolíticos, así como factores de crecimiento y sustancias vasoactivas (Ver Figura 2).

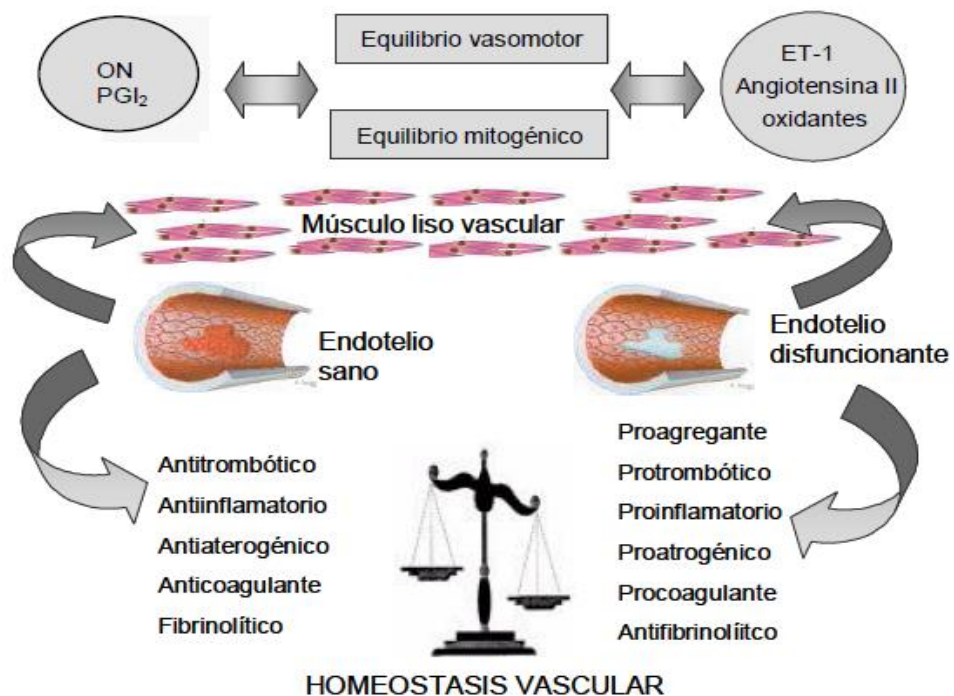
En condiciones normales, el endotelio sano soporta el estrés mecánico del flujo sanguíneo con un efecto neto antitrombótico. Así, la síntesis de óxido nítrico y de prostaciclina favorece la vasodilatación e inhibe la activación plaquetaria, a la vez

que la expresión en la superficie endotelial de la trombomodulina y del receptor endotelial de la proteína C (Endothelial Protein C Receptor, EPCR) aportan actividad anticoagulante. Asimismo, la disminución de la acción de las hormonas sexuales femeninas y el efecto deletéreo de algunas neurohormonas o el de los factores de riesgo cardiovascular interfiere con la función endotelial.

El endotelio disfuncionante favorece la migración de células y lípidos, la oxidación de las lipoproteínas, la proliferación de células musculares lisas, la expansión o la lisis de la matriz extracelular, la activación plaquetaria y la trombosis.

Estos últimos mecanismos se ponen en marcha en el endotelio disfuncionante gracias a la capacidad de síntesis de sustancias procoagulantes (Factores V y VIII) y antifibrinolíticas (Plasminogen Activator Inhibitor type 1, PAI-1), así como por la acción de sustancias proagregantes plaquetarias (Tromboxano A2 y Factor de von Willebrand) (3).

Figura 2. Esquema-resumen de la función endotelial. ON: óxido nítrico; PGI₂: prostaciclina 2; ET-1: endotelina 1.



Fuente: J.A. Páramo, E. Panizo, C. Pegenaute, R. Lecumberri. Coagulación 2009: una visión moderna de la hemostasia. REV MED UNIV NAVARRA/VOL 53, Nº 1, 2009, 19-23.

7.2 HEMOSTASIA

La hemostasia es el fenómeno fisiológico que detiene el sangrado. La hemostasia es un mecanismo de defensa que junto con la respuesta inflamatoria y de reparación ayudan a proteger la integridad del sistema vascular después de una lesión tisular (4).

Clásicamente se ha dividido en hemostasia primaria, en la que participan fundamentalmente las plaquetas a través de los procesos de adhesión, reclutamiento, activación y agregación para formar el tapón hemostático plaquetario inicial, y fase de coagulación sanguínea (hemostasia secundaria). La deficiencia o anomalía del sistema hemostático conlleva una tendencia hemorrágica (e.j. Hemofilia), mientras que una activación excesiva puede resultar en trombosis que ocluye la luz del vaso (Ej. Trombosis venosa).

En la década de 1960, dos grupos propusieron un modelo de coagulación que contemplaba una cascada enzimática compuesta por una serie de etapas secuenciales, en las que la activación de un factor de coagulación activa al siguiente, para favorecer la generación de la enzima activa, Trombina, que convierte una proteína soluble del plasma, Fibrinógeno, en una proteína insoluble, Fibrina, componente estructural del coágulo (5).

Según el modelo clásico, existirían dos vías de activación, intrínseca y extrínseca, iniciadas por el factor XII y el complejo factor tisular (FT)/factor VII respectivamente, que convergen en una vía común a nivel del factor X activo (Xa). El complejo protrombinasa, compuesto por el factor Xa, Ca^{++} y factor Va, a nivel de superficies fosfolipídicas favorecería la generación de trombina y la formación de fibrina. Este esquema sigue siendo útil para explicar las pruebas de laboratorio empleadas para monitorizar la Hemostasia, como el tiempo de protrombina (TP) para la vía extrínseca y el tiempo parcial de tromboplastina activado (TPTa).

En condiciones normales la sangre circula en fase líquida en todo el organismo. Después de una lesión vascular la sangre se coagula sólo en el sitio de la lesión para sellar únicamente el área lesionada. La transformación de sangre líquida en coágulo sólido está regulada por el sistema hemostático y depende de una interacción compleja entre la sangre (que contiene las células y los factores que intervienen en la coagulación) y la pared vascular (el endotelio vascular que tiene un papel fundamental dentro de la coagulación y la fibrinólisis, y en condiciones

fisiológicas tiene propiedades anticoagulantes pero puede presentar propiedades procoagulantes cuando se rompe el equilibrio) (6).

Por una parte está el sistema de la coagulación que junto con sus mecanismos de retroalimentación asegura la eficacia hemostática y, por otro lado, está el sistema fibrinolítico que actúa como regulador del sistema de la coagulación, eliminando la fibrina no necesaria para la hemostasia. El sistema tiene mecanismos de seguridad: cada componente es inactivo y se tiene que activar, la mayoría de los componentes forman complejos con la superficie de las membranas que están localizados sólo en la región del vaso lesionado y, finalmente, existen los inhibidores del proceso para evitar una activación de la coagulación y fibrinólisis más allá de la lesión. La hemostasia resultante siempre depende del equilibrio entre ambos sistemas, así vemos que:

- En las personas sanas el equilibrio es perfecto.
- Si disminuyen los factores de coagulación o el potencial fibrinolítico sobrepasa el potencial de coagulación se producirá una hemorragia.
- Si el potencial de coagulación sobrepasa el fibrinolítico o bien disminuyen los factores inhibidores de la coagulación se producirá una trombosis.

7.3 FISIOLÓGÍA DE LA COAGULACIÓN

El sistema de la coagulación es normalmente inactivo pero se activa en pocos segundos después de la lesión. El estímulo que desencadenará la activación de la hemostasia es la lesión a nivel del endotelio (que normalmente hace de barrera entre la circulación y el tejido a irrigar) provocando el contacto de la sangre con el tejido conectivo subendotelial. La respuesta hemostática incluye tres procesos: la hemostasia primaria, la hemostasia secundaria y la fibrinólisis; existiendo siempre una interacción entre la pared vascular y la sangre.

7.3.1 La hemostasia primaria. Se inicia a los pocos segundos de producirse la lesión interaccionando las plaquetas y la pared vascular y tiene una importancia enorme para detener la salida de sangre en los capilares, arteriolas pequeñas y vénulas, se produce una vasoconstricción derivando la sangre fuera del área lesionada. Las plaquetas se adhieren al vaso lesionado y se agrupan formando el

tapón plaquetario. Así se sella la lesión de la pared y cede temporalmente la hemorragia. La adhesión plaquetaria a la pared vascular está controlada por el equilibrio entre dos prostaglandinas (Tromboxano A2 y Prostaciclina) y favorecida por diversas sustancias siendo una de ellas el factor von Willebrand (FvW).

7.3.2 La coagulación o hemostasia secundaria. Es la interacción de las proteínas plasmáticas o factores de coagulación entre sí que se activan en una serie de reacciones en cascada conduciendo a la formación de fibrina. La fibrina formará una malla definitiva que reforzará al trombo plaquetario construyéndose finalmente un coágulo o trombo definitivo. Intervienen en el proceso una serie de proteínas procoagulantes (los doce factores de coagulación responsables de la formación de fibrina) y proteínas anticoagulantes (regulan y controlan la coagulación evitando que los factores activados en un punto concreto se dispersen y produzcan una coagulación generalizada, siendo los más importantes: antitrombina III, proteína C y proteína S).

7.3.3 Sistema hemostático. En estudios más recientes se demostró la importancia del componente celular en el proceso de coagulación. Es claro que la hemostasia no es posible sin el concurso de las plaquetas.

Además, el FT es una proteína que está presente en la membrana de diversas células, como fibroblastos, y hoy sabemos que diferentes células expresan proteínas procoagulantes y anticoagulantes, además de receptores para diversos componentes de la hemostasia, lo que ha supuesto un nuevo paradigma para explicar las reacciones que tienen lugar durante el proceso hemostático.

FASE 1 DE INICIACIÓN: Exposición de Factor tisular tras la lesión vascular: El FT es el principal iniciador de la coagulación in vivo y un componente integral de la membrana celular. Se expresa en numerosos tipos celulares y está presente en monocitos circulantes y en células endoteliales en respuesta a procesos inflamatorios.

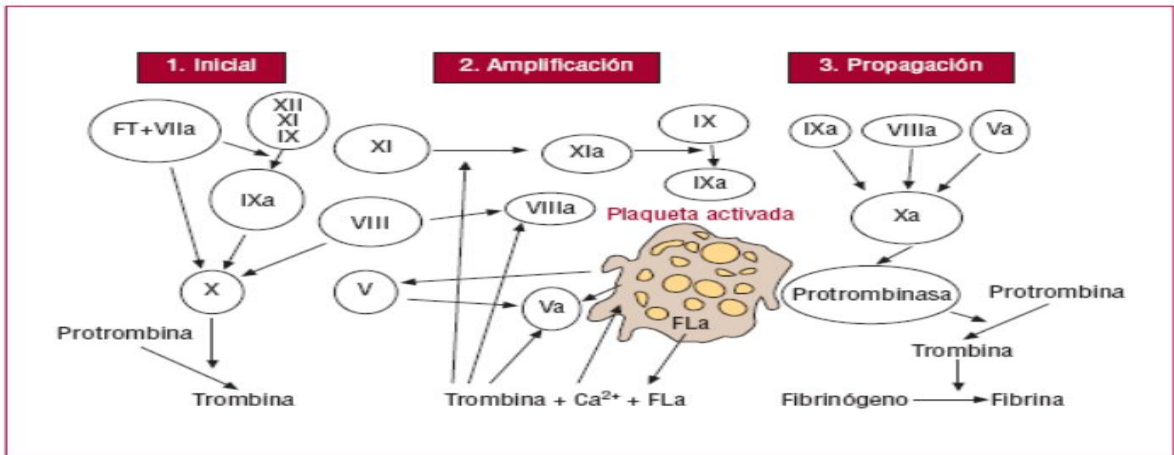
Durante el proceso hemostático que tiene lugar tras la lesión vascular, se produce el contacto de la sangre circulante con el subendotelio, lo que favorece la unión del FT con el Factor VII circulante y su posterior activación. El complejo FT/VIIa activa los factores IX y X. El factor Xa se combina en la superficie celular con el factor Va para producir pequeñas cantidades de trombina, que jugarán un papel importante en la activación de plaquetas y factor VIII durante la siguiente fase.

FASE 2 DE AMPLIFICACIÓN: La trombina generada en células donde se expone el FT: El daño vascular favorece el contacto de las plaquetas y componentes plasmáticos con tejidos extravasculares. Las plaquetas se adhieren a la matriz subendotelial, siendo activadas en lugares donde se ha expuesto FT. Las pequeñas cantidades de trombina generadas amplifican la señal procoagulante inicial activando los factores V, VIII y XI, que se ensamblan en la superficie plaquetaria para promover ulteriores reacciones en la siguiente fase.

FASE 3 DE PROPAGACIÓN: Generación de trombina sobre la superficie plaquetaria y “explosión” de trombina: Durante esta fase, el complejo “tenasa” (VIIIa, IXa, Ca⁺⁺ y fosfolípidos) cataliza la conversión de factor Xa, mientras que el complejo “protrombinasa” (Xa, Va, Ca⁺⁺ y fosfolípidos) cataliza a nivel de la superficie plaquetar, la conversión de protrombina en grandes cantidades de trombina (“explosión de trombina”), necesarias para la formación de un coágulo estable de fibrina (Ver Figura 3). La protrombinasa es 300.000 veces más activa que el factor Xa en catalizar la activación de protrombina. La trombina generada activaría, asimismo, al factor XIII o factor estabilizador de la fibrina y a un inhibidor fibrinolítico (TAFI) necesarios para la formación de un coágulo de fibrina resistente a la lisis.

Por consiguiente, según el modelo celular actual de la hemostasia, la coagulación fisiológica depende de la exposición de FT (subendotelial), que se pone en contacto en el lugar de la lesión con el factor VIIa y del ensamblaje de las reacciones de coagulación a nivel de superficies celulares como las plaquetas, lo que favorece la formación de trombina a nivel local y la generación de un coágulo estable de fibrina. Este modelo contempla una vía única y la focalización del proceso en las superficies celulares (3).

Figura 3. Etapas del modelo celular de la coagulación.



Fases	Células	Proteínas de coagulación
Iniciación	Macrófagos Fibroblastos endotelio	Factor tisular Factor VII Factor IX
Amplificación	Plaquetas	Factor V Factor VIII Factor X
propagación	plaquetas	Factor X trombina

Fuente: J.A. Páramo, E. Panizo, C. Pegenaute, R. Lecumberri. Coagulación 2009: una visión moderna de la hemostasia. REV MED UNIV NAVARRA/VOL 53, Nº 1, 2009, 19-23.

7.3.4 Fibrinólisis. El término fibrinólisis fue introducido hace más de un siglo por Dastre para describir la disolución espontánea de coágulos sanguíneos. A pesar del tiempo transcurrido desde entonces, podemos decir que esta definición de la fibrinólisis como “conjunto de mecanismos encargados de lisar el coágulo de fibrina una vez formado”, sigue siendo precisa. Pero la fibrinólisis también interviene en otros procesos fisiológicos y patológicos, como son la angiogénesis, la regeneración tisular, la reproducción, la endometriosis y la invasión tumoral (7).

El funcionamiento del sistema fibrinolítico tiene como base la conversión de una proenzima, el plasminógeno, en su enzima proteolíticamente activa, la plasmina, la cual es capaz de degradar la fibrina y así, eliminar el coágulo previamente formado (Ver figura 4).

La transformación del plasminógeno en plasmina se produce mediante la acción proteolítica de dos enzimas, denominados respectivamente activador tisular del plasminógeno (tissue-type Plasminogen Activator, tPA) y activador del plasminógeno tipo urokinasa (urokinase-type Plasminogen Activator, uPA) (8).

Cuando la plasmina actúa sobre la fibrina genera productos de degradación de la fibrina con residuos de lisina en posición carboxiterminal. Estos residuos constituyen sitios de unión para el tPA y el plasminógeno y por ello son responsables de amplificar enormemente la cascada de la fibrinólisis. Como en cualquier proceso biológico regulado, a esta tendencia profibrinolítica se opone una actividad antifibrinolítica, de tal modo que sólo un adecuado equilibrio entre ambas fuerzas dará lugar a un correcto funcionamiento del sistema global (7).

La inhibición de la fibrinólisis se ejerce a varios niveles. Por una parte, están los inhibidores naturales de los activadores del plasminógeno los cuales se denominan: PAI-1 o de tipo endotelial (9), PAI-2 o de tipo placentario.

El primero se ha descrito ampliamente y del segundo interesa destacar que sólo se han detectado niveles plasmáticos significativos en mujeres gestantes y parece que podría ser un marcador de función placentaria (8).

Existe un tercer inhibidor de los activadores del plasminógeno denominado inicialmente PAI-3, aunque más tarde se identificó como el principal inhibidor de la proteína C activada, el PCI (10). Dicho inhibidor es capaz de inhibir al UPA y al TPA de dos cadenas pero, aunque su concentración plasmática es superior a la de los otros PAI su actividad inhibitoria a nivel fibrinolítico es menor (3).

Como su nombre lo indica, estos PAI controlan la fibrinólisis inhibiendo la activación de plasminógeno a plasmina.

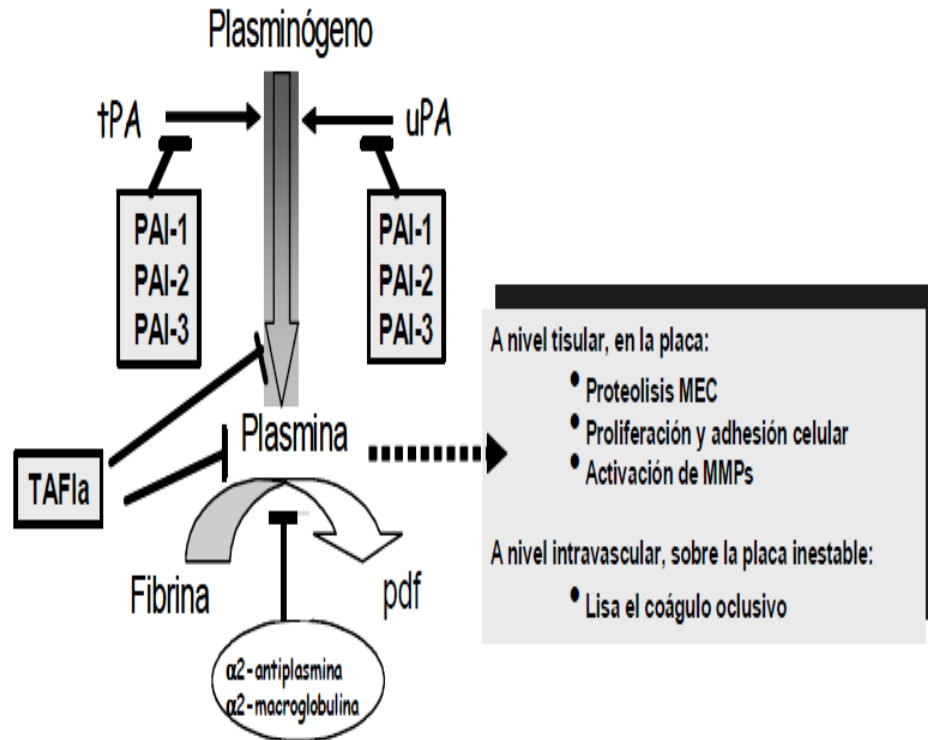
Recientemente se ha descrito otro mecanismo que regula negativamente dicha activación, la vía del inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina (Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor, TAFI).

Se sabe que los residuos de aminoácidos básicos (lisina y arginina) exhibidos en la superficie de la fibrina parcialmente degradada sirven de anclaje al plasminógeno y al tPA (7).

Cuando el plasminógeno y el tPA coinciden en la superficie del coágulo de fibrina tiene lugar la activación del plasminógeno en plasmina.

Pues bien, precisamente a ese nivel, el TAFI una vez activado (TAFIa) es capaz de eliminar los residuos de lisina y arginina de la superficie de la fibrina, que impide la activación del plasminógeno en plasmina, y así, disminuye la cascada de la fibrinólisis.

Figura 4. Esquema simplificado del funcionamiento del sistema fibrinolítico. TPA: activador tisular del plasminógeno; UPA activador del plasminógeno tipo urokinasa; PAI: inhibidor del activador del plasminógeno; TAFIa: inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina activado; pdf: Productos de degradación de la fibrina; MEC: matriz extracelular.



Fuente: Furie B, Furie BC. Molecular basis of blood coagulation. En: Hematology. Basic principles and practice. 5th Edition. Hoffman Retal (eds). Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia, USA 2009; pp1819-1836.

La fibrinólisis también se regula una vez que el plasminógeno ha sido ya activado y transformado en plasmina. Así, la actividad proteolítica de la plasmina está regulada por la acción de la α 2-antiplasmina, su principal inhibidor fisiológico y, en menor medida, por la α 2-macroglobulina y el TAFIa (11).

A continuación, en el Cuadro 2 se exponen las características de los principales factores implicados en el sistema de la fibrinólisis.

Cuadro 2. Características de los principales reguladores del sistema fibrinolítico. D: degrada a; A: activa a; I: Inhibe a; tPA: activador tisular del plasminógeno; scu-PA: activador del plasminógeno tipo urokinasa de una cadena; PAI: Inhibidor del activador del plasminógeno; TAFIa: Inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina activado; AA: aminoácidos; Conc: Concentración plasmática normal. (Modificado de Dobrovolsky AB y col, 2001 (3).

	AA	Masa molecular (kDa)	Conc (mg/l)	Vida media	Función principal
Plasminógeno	791	90	200	50 horas	proenzima
Plasmina	715	85	2		D: fibrinógeno, fibrina y TAFI A: TAFI I: TAFIa
tPA	527	68	0.01	2-3 minutos	A: plasminógeno
scu-PA	411	54	0.008	3-5 minutos	A: plasminógeno
PAI-1	379	52	0.01	5-7 minutos	I: tPA, uPA
PAI-2	393	70	<0.005		I: tPA, uPA
α_2 antiplasmina	452	70	70	50 horas	I: plasmina
α_2 macroglobulina	4 x 1451	725	2000	50 horas	I: plasmina (inespecífico)
TAFIa	309	35	4-15	9-15 minutos	Impide la activación del plasminógeno I: plasmina

Fuente: J.A. Páramo, E. Panizo, C. Pegenaute, R. Lecumberri. Coagulación 2009: una visión moderna de la hemostasia. REV MED UNIV NAVARRA/VOL 53, Nº 1, 2009, 19-23.

Estos son, básicamente, los factores implicados en la fibrinólisis de modo que una correcta hemostasia depende del balance de fuerzas entre todas estas tendencias opuestas. Por otra parte, el equilibrio entre ellas se encuentra íntimamente relacionado con la hemostasia primaria (dependiente de las plaquetas) y con la hemostasia secundaria (dependiente de la coagulación). Por último, interesa resaltar que no se trata de un equilibrio estático, sino tremendamente dinámico y adaptable a diferentes situaciones fisiológicas.

Además de los inhibidores de la fibrinólisis comentados arriba, existen otras moléculas que modulan la actividad fibrinolítica tanto a nivel tisular (proteasa nexina 1) como a nivel intravascular sobre la superficie endotelial (anexina 2). La proteasa nexina 1 es liberada en la matriz extracelular por los fibroblastos, donde inhibe la acción de la plasmina y de los activadores del plasminógeno. Por ello, se le reconoce un efecto hipofibrinolítico que contribuye a dar estabilidad a la placa

de ateroma. Por el contrario, la anexina 2 es un receptor situado en la membrana endotelial que pertenece a la superfamilia de las proteínas calcio-dependientes con capacidad para unir fosfolípidos, su actividad fundamental es la de incrementar hasta 60 veces la activación del plasminógeno dependiente de tPA, efecto que se suprime cuando se eliminan los residuos de lisina de la superficie de la fibrina parcialmente degradada. El TAFI disminuye la acción de la anexina 2 inhibiendo, por tanto, la fibrinólisis, porque es capaz de eliminar los residuos de lisina de la superficie de la fibrina, sitio de anclaje de la anexina 2.

7.4 DÍMERO D (DD)

El Dímero-D es un producto de degradación de la fibrina (no del fibrinógeno), y hasta la fecha es el más específico. En los últimos siete años han aparecido una serie de trabajos relacionándolo con el diagnóstico del Tromboembolismo Pulmonar TEP y de la Trombosis Venosa Profunda (TVP), que a efectos prácticos requiere el mismo planteamiento.

La rentabilidad diagnóstica del Dímero-D viene dada por su capacidad de afirmar el diagnóstico de TEP y / o TVP cuando se encuentra elevado (valor predictivo positivo) y de excluir estas afecciones cuando sus valores están por debajo del límite normal (valor predictivo negativo) (12).

El valor predictivo negativo del DD, que señalaría la fiabilidad de este test para descartar la existencia de una trombosis sin necesidad de practicar ulteriores estudios, parece razonablemente bueno en la mayoría de los estudios (por encima del 90 %).

Hay que hacer algunas matizaciones, ya que un DD normal (valores por debajo de 500 según los diferentes autores) se encuentra sólo en una proporción reducida de los pacientes en los que se sospecha clínicamente TEP y/o TVP (13).

Como en cualquier otra prueba de cribado, de la determinación del dímero-D debe esperarse una elevada sensibilidad, aunque su especificidad sea menor. Su utilidad radica, por tanto, en su alto valor predictivo negativo (VPN), es decir, en su capacidad para excluir la enfermedad, pero no como instrumento para apoyar el diagnóstico. De hecho, las concentraciones de dímero-D pueden incrementarse en una serie de situaciones clínicas (Ver Cuadro 3).

Cuadro 3. Situaciones en las que la concentración plasmática de DD esta elevada.

Embolia pulmonar	Cirrosis hepática
Trombosis venosa profunda	Insuficiencia renal
Sepsis	Gestación
Neoplasia	Ictus cerebral isquémico
Cirugía reciente	Isquemia arterial periférica
Politraumatismo	Edad avanzada
Insuficiencia cardíaca	Crisis depreanocíticas
Síndrome coronario agudo	

Fuente: Activation of endothelial cells, coagulation and fibrinolysis in children with Dengue virus infection. *Thromb Haemost* 2007; 97: 627–634.

7.4.1 Métodos de determinación del Dímero-D en plasma. Se ha comercializado una amplia variedad de métodos tanto cualitativos como semicuantitativos, para determinar los valores plasmáticos de dímero-D. Entre las técnicas inicialmente empleadas figuraban un ELISA estándar y las técnicas de aglutinación de partículas de látex. La primera se considera como la técnica patrón oro, pero su aplicación clínica se ve limitada por la imposibilidad para realizarla de forma rápida. Las técnicas de látex, a pesar de que el resultado se obtiene en minutos, son criticadas por una sensibilidad insuficiente para su aplicación como método de cribado. En los últimos años han surgido nuevas técnicas que intentan superar las limitaciones de las clásicas.

Entre éstas, el método de aglutinación de hematíes (SimpliRED) y el ELISA rápido (VIDAS) han sido las más utilizadas y ampliamente valoradas en diversos estudios clínicos. También se han comercializado recientemente técnicas de inmunofiltración (Instant IA, Nycocard D-dimer), técnicas turbidimétricas (STA Liatest, y D-Di, IL test D-Dimer, MDA D-dimer...) denominadas técnicas látex de segunda generación. Las propiedades de cada tipo de técnica se describen en el.

Cuadro 4. Métodos de determinación de Dímero-D.

Técnica	Sensibilidad	Especificidad	Características
ELISA convencional	Alta	Baja	Considerada prueba de referencia. Utilidad clínica limitada
VIDAS ELISA	Alta	Baja	Técnica rápida. Sensibilidad similar al ELISA convencional
Inmunofiltración	Alta	Baja intermedia	Técnica rápida. Sensibilidad alta
Aglutinación de partículas de látex	Intermedia	Intermedia	Técnica rápida. Sensibilidad insuficiente
Aglutinación de hematies	Alta (intermedia en algunos estudios)	Intermedia	Técnica rápida. Sensibilidad alta en pacientes con baja probabilidad clínica
Inmunoturbimétrica	Alta	Intermedia	Técnica rápida. Sensibilidad similar al ELISA convencional

Fuente: Activation of endothelial cells, coagulation and fibrinolysis in children with Dengue virus infection. *Thromb Haemost* 2007; 97: 627–634.

Los estudios acerca de su poder estadístico como marcador analítico de trombosis venosa profunda y tromboembolismo pulmonar concluyen que la determinación del DD es una prueba de elevada sensibilidad y baja especificidad (98-100% y 35-39%, respectivamente) y con alto valor predictivo negativo.

Por tanto, el DD es útil para descartar la trombosis venosa profunda y el tromboembolismo pulmonar, pero no para confirmar su presencia.

Todos estos estudios se han realizado en adultos. Sin embargo, en la población pediátrica, la trombosis venosa profunda y el tromboembolismo pulmonar son poco frecuentes. Dentro de su escasa frecuencia en niños, las trombosis arteriales o venosas sintomáticas son más frecuentes en neonatos, probablemente por tener menos inhibidores fisiológicos de la coagulación y menos capacidad fibrinolítica que otros niños.

En diversos estudios, se señala el alto valor predictivo negativo del DD en la recurrencia tras un evento trombótico. Aparte de para el control de patología

trombótica, más propia de la población adulta, en niños es conocida la utilidad del DD en el seguimiento de cuadros severos; uno de ellos es el síndrome hemolítico urémico. En estos niños hay una coagulación intravascular limitada con elevación del DD.

También se eleva en cuadros de coagulación intravascular diseminada y ha sido descrito su aumento en traumatismos craneales.

Del mismo modo, ha sido descrita su utilidad en niños con síndrome nefrótico, como indicador de predisposición a fenómenos tromboembólicos.

Todas las indicaciones comentadas corresponden al control evolutivo de diversas patologías, sin embargo, no hay datos claros acerca de su utilidad como herramienta diagnóstica y pronóstica en procesos agudos.

7.4.2 Valores normales de DÍMERO D.

- La sensibilidad de este análisis es superior a 95%.
- Un índice bajo de Dímeros-D permite descartar una embolia pulmonar o una trombosis venosa profunda con casi 100% de certeza.
- Este examen puede practicarse con urgencia para tratar o eliminar una embolia pulmonar o una trombosis venosa profunda.
- El índice normal de Dímeros-D en la sangre es inferior a 500 microgramos/litro.

7.4.3 Un análisis muy sensible pero poco específico. Este análisis de sangre es muy sensible pero poco específico. Además, la concentración de dímeros en la sangre puede aumentar debido a ciertos factores.

Es importante señalar que un aumento de la concentración de Dímeros-D no confirma necesariamente una embolia pulmonar o una trombosis venosa profunda. Sin embargo, un resultado negativo sí descarta por completo el diagnóstico de una embolia pulmonar o una trombosis venosa profunda (14).

7.5 PRUEBAS DE COAGULACIÓN

En cuanto a los parámetros de la coagulación, se ha documentado una asociación entre alteraciones en las proteínas anticoagulantes y la aparición de hemorragias espontáneas en pacientes con dengue.

De estas alteraciones, el incremento en los niveles de PAI-1 y la disminución de la Proteína S, estuvieron asociados a una mayor severidad del sangrado (15).

Las anomalías en la coagulación, en combinación con la trombocitopenia profunda y otros efectos secundarios a estados de profundo choque, como la hipoxia y la acidosis, pueden llevar a una verdadera coagulación intravascular diseminada, la cual conduciría a una coagulopatía de consumo y a la aparición de sangrados mayores.

Las pruebas de laboratorio más comúnmente empleadas y disponibles en nuestro medio para medir las alteraciones de la coagulación son el tiempo de protrombina (TP) y el tiempo parcial de tromboplastina (TPT) (16). En la literatura se encuentran tres trabajos que evalúan la asociación entre el resultado de estas pruebas y el sangrado espontáneo en dengue (17, 18, 19). Estos estudios fueron realizados en diferentes países de Asia; sin embargo, en todos sólo se incluyeron niños hospitalizados y la recolección de la información de las pruebas se realizó de forma simultánea con la evaluación del desenlace.

El primer estudio, realizado en Filipinas, evaluó las pruebas de TP y TPT en 59 pacientes. Los autores reportan que la prolongación de ambos tiempo de coagulación fue significativamente mayor entre los pacientes que sangraron ($p < 0,001$, para ambas pruebas). Además, se indicó que la prolongación del TP tiene una sensibilidad de 56,52% y una especificidad de 61,53% para clasificar a la población con sangrado. Por otra parte, la prolongación del TPT tendría una sensibilidad de 91% y un valor predictivo positivo de 71,42% (17).

Un estudio posterior mostró que en un grupo de pacientes con sangrado significativamente importante los promedios de TP y TPT eran mayores, comparados con un grupo que no desarrollo sangrado o éste fue leve (18). De esta manera, el cociente del TP del paciente por el valor de referencia fue en promedio de 2,16 (IC95%: 1,0-4,0) entre los casos de sangrado y de 1,19 (IC95%

1,0-2,4) entre los controles. De otro lado, los promedios (en segundos) de TPT fueron de 120 (48,5-200) y 72,2 (36,8-182,8), respectivamente.

Adicionalmente, el estudio más reciente que evaluó estas pruebas encontró una asociación positiva entre el TPT y el sangrado espontáneo. En este último trabajo, el TP no se midió en un número de pacientes suficiente para el análisis, por lo que no se reportaron resultados sobre esta prueba (19). Los resultados de estas investigaciones sugieren una importante alteración en los mecanismos de la coagulación en los pacientes con dengue que sangran. Sin embargo, debido al diseño de estos trabajos, no se ha establecido la relación temporal entre el resultado de estas pruebas y la aparición del sangrado.

7.6 RECUENTO DE PLAQUETAS

La trombocitopenia es un rasgo distintivo del dengue y su intensidad ha sido tomada como un parámetro para clasificar la severidad de la enfermedad (20). La OMS sugiere que para considerar un caso de Dengue, éste debe presentar al menos un recuento de plaquetas inferior a 100.000/mm³. Por otra parte, se recomienda como criterio de egreso hospitalario, la evolución hacia recuentos de plaquetas superiores a 50.000/ mm³ (21).

Encontramos en la literatura algunos estudios que nos hablan de plaquetas y dengue.

En tres de los ocho estudios, no se encontró asociación estadísticamente significativa entre el recuento de plaquetas y la aparición de sangrado espontáneo (22, 23, 24). El primero se desarrolló en India y comparó 148 niños con un recuento de plaquetas inferior a 100.000/ μ L contra 122 sin trombocitopenia (22), en estos grupos se presentaron hemorragias espontáneas en 29 y 15 pacientes, respectivamente ($p = 0,10$).

En el segundo estudio, realizado en Tailandia con 68 niños, se adjudicó un puntaje de sangrado de acuerdo a la presencia de hemorragias y su ubicación anatómica; sin embargo, los recuentos de plaquetas no fueron diferentes entre los grupos formados según el puntaje mencionado (23).

Finalmente, el último de estos tres estudios se realizó en Malasia, donde no se vieron diferencias entre los recuentos de plaquetas de los niños con sangrado significativo, comparados con aquellos sin sangrado o con sangrado leve ($n = 22$ y $n = 92$). Los promedios en los recuentos mínimos de plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$) fueron respectivamente: 17 (IC95%: 7,0-90) y 22 (IC 95%: 5,3-99,5; $p = 0,23$) (24).

En los otros cinco trabajos, las hemorragias espontáneas se asociaron con bajos recuentos de plaquetas (25,21). De estos, el estudio con mayor número de pacientes se realizó aquí en Colombia. Éste incluyó 790 pacientes hospitalizados, 567 adultos y 223 niños (menores de 15 años). En los resultados se evidenció una fuerte asociación entre un recuento de plaquetas inferior a $50.000/\mu\text{L}$ y las hemorragias espontáneas (OR = 2,2; IC95%: 1,5-3,1 $<0,0001$).

Esta asociación fue independiente de las variables de edad, género y tiempo de evolución de los síntomas (21).

Generalizando, la evidencia disponible sugiere una consistente asociación entre el descenso de las plaquetas y la aparición de hemorragias (21, 25). Aunque en algunos estudios esta asociación no fue estadísticamente significativa, esto parece deberse a insuficientes tamaños de muestra (22, 23, 24). Pese a lo anterior, aún queda por evaluarse la utilidad del recuento de plaquetas en la predicción de hemorragias.

7.7 GENERALIDADES DE LA INFECCIÓN POR VIRUS DENGUE

- El dengue es la enfermedad viral más importante transmitida por mosquitos a nivel mundial.
- En Colombia, actualmente se calcula una incidencia de 13 por 100.000.
- En el departamento del Huila la incidencia es de 60 casos por 100.000 habitantes.
- En el Hospital Universitario de Neiva centro de referencia de la región Surcolombiana, el Dengue es la segunda causa de hospitalización en el departamento de Pediatría. Se ha encontrado un incremento en el número de

casos en dos épocas del año, relacionado con los cambios climáticos, especialmente entre los meses de Mayo y Julio como de Octubre a Enero

7.7.1 Historia. La fiebre del Dengue en Humanos es, posiblemente, tan antigua como la humanidad (26,27). Los primeros registros disponibles que sugieren posibles casos de Dengue se encuentran en una enciclopedia médica china de la dinastía Jin en los años 265-420 AD. Los escritos describen la enfermedad, con una visión epidemiológica, como "veneno de agua" asociadas con el vuelo de insectos. Unos dos mil años después, los primeros brotes de una enfermedad compatible con Dengue clásico se presentaron en el Caribe en 1635 y 1699, mucho antes de que se informaran las epidemias simultáneas de 1779 y 1780 que se presentaron en Asia, África y América del Norte. Estos informes sugieren que hace 200 años, la distribución de los vectores se había extendido (26,28). En 1789 Benjamín Rush reportó el primer caso definitivo de la enfermedad y acuñó el término "fiebre rompehuesos". Desde entonces, brotes importantes han sido reconocidos en todo el mundo cada 20-40 años.

La ausencia de epidemias de Dengue desde 1946 hasta 1963 se atribuye al éxito parcial de la erradicación de *Aedes aegypti* con programas diseñados para prevenir la fiebre amarilla urbana (26,29,30). Desde entonces, el Planeta ha sido ampliamente reinfestado y el Dengue ha resurgido.

La Segunda Guerra Mundial causó importantes cambios ecológicos y demográficos que facilitaron la transmisión y propagación del dengue en la región de Asia-Pacífico, incluyendo la alta movilidad de los civiles y soldados y el aumento del número de personas susceptibles en áreas endémicas.

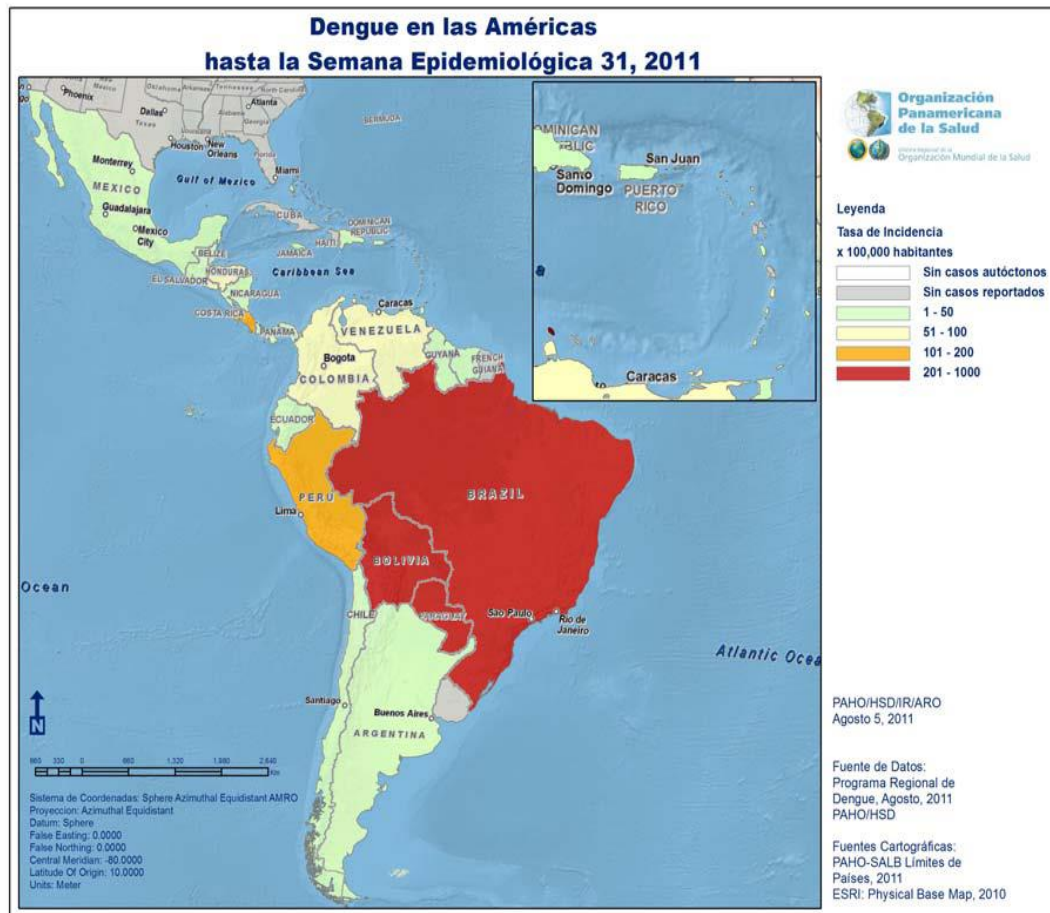
El transporte de carga, la expansión económica y la continua urbanización han facilitado el movimiento y la reproducción de vectores adultos y la propagación de los virus (26,31, 32).

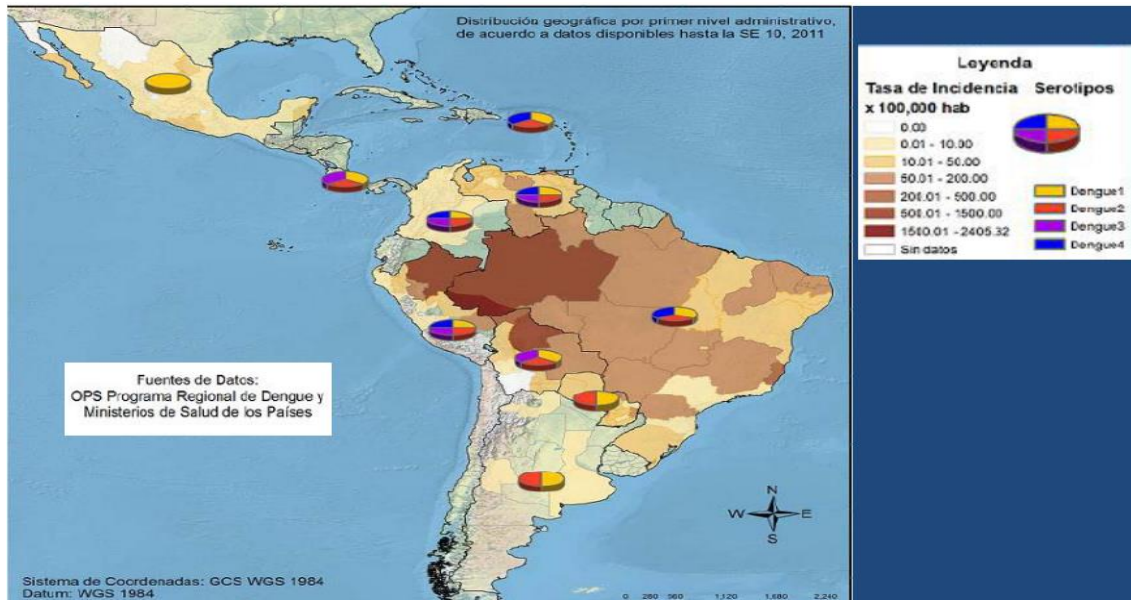
7.7.2 Epidemiología. El dengue es la enfermedad viral transmitida por vectores de más rápida propagación en el mundo. En los últimos 50 años, su incidencia ha aumentado 30 veces con la creciente expansión geográfica hacia nuevos países y en la actual década, de áreas urbanas a rurales. Anualmente ocurre un estimado de 50 millones de infecciones por dengue, y aproximadamente, 2,5 millones de personas viven en países con Dengue endémico. (26,29,33)

Tras el importante brote registrado en el segundo semestre del 2010, Colombia ha presentado menos casos en comparación con la misma época del año pasado. Del mismo modo las inundaciones que afrontó Colombia durante una fuerte ola invernal requirió la intensificación de la vigilancia. (26,34)

Hasta la Semana 29 de 2011 se notificaron 19.482 casos de Dengue (Incidencia de 84.93 casos por 100.000 habitantes), 4.070 confirmados por laboratorio y de los cuales 819 corresponden a Dengue grave (20%). Hasta la citada semana se han confirmado 36 defunciones por Dengue, lo que representaba una letalidad del 4,03% sobre los casos graves. (26,35) (Ver figuras 5 y 6)

Figura 5. Situación del Dengue en las Américas, 2011.





Fuente: Alerta Epidemiológica: Actualización sobre situación de Dengue en las Américas (publicado 19 de agosto de 2011).

Figura 6. Situación del Dengue en las Américas, 2012.



Fuente: Alerta Epidemiológica: Actualización sobre situación de Dengue en las Américas OPS (Publicado 9 de Enero de 2012).

7.7.3 Situación en las últimas décadas. El Dengue es endémico en países tropicales y subtropicales y es la enfermedad por Arbovirus que se ha extendido más rápidamente entre las regiones tropicales y subtropicales del planeta. También se comporta de manera epidémica cuando existen las condiciones apropiadas.

La aparición de algunas condiciones, a saber, la presencia de grandes territorios con infestación del mosquito Aedes, importantes grupos humanos vulnerables y la continua introducción y/o circulación de uno o varios serotipos, son los factores responsables de la endemidad y epidemidad del Dengue (26,36). Los parámetros ambientales como la temperatura y la precipitación afectan la demografía y el comportamiento de los vectores Aedes, por lo tanto el clima, el aumento desordenado de la población mundial, viajes internacionales, la pobreza, y la falta de programas sostenidos en varios niveles se supone que son factores contribuyentes, sin embargo, la contribución específica de cada factor es difícil de medir (26,31).

La transmisión del Dengue se produce en más de 100 países y en la región pacífica de Asia, las Américas, el Oriente Medio y África el número de casos sigue aumentando (26,34, 35). Se estima que cerca de 2.5 mil millones de individuos, un asombroso 40% de la población mundial, habitan en las zonas donde existe el riesgo de transmisión del Dengue y que la carga de la enfermedad ha aumentado por lo menos cuatro veces en las últimas tres décadas (26,37).

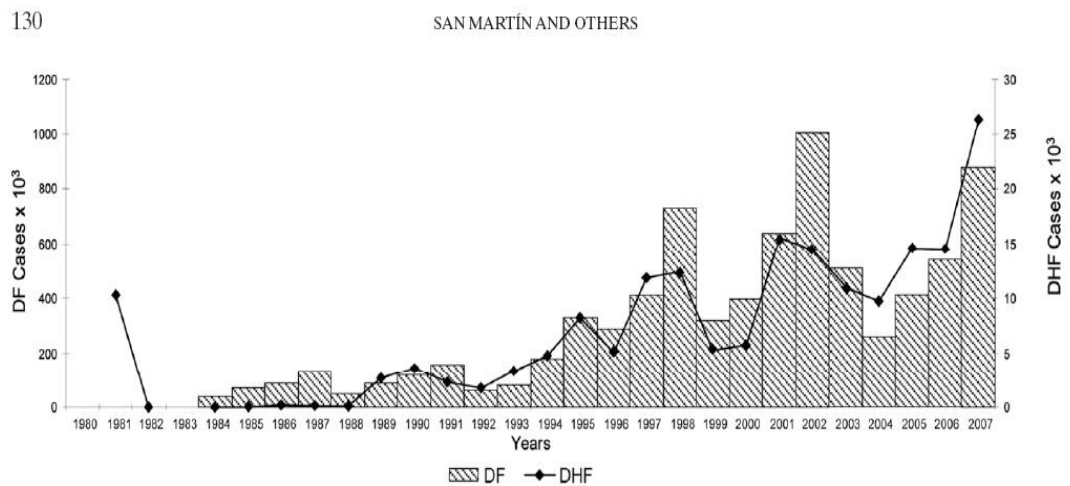
Se sugiere que aproximadamente 50 -100 millones de infecciones humanas se producen anualmente, de los cuales alrededor de 500.000 son Dengue severo. La OMS calcula 22.000 muertes al año, principalmente en pacientes pediátricos. Además, en regiones endémicas, la probable carga de la enfermedad en los años de vida ajustados por discapacidad es alto: 0.42 x 1000 habitantes. En Asia Sudoriental y el Pacífico Occidental la tasa de ataque puede llegar a 6400 x 100.000 habitantes, pero un fuerte aumento ha sido reportado en las Américas durante las últimas décadas (26).

7.7.4 La epidemiología del dengue en las Américas, durante los últimas tres décadas. Se ha informado de las características de las epidemias de la enfermedad del Dengue en la Región de las Américas entre 1980 y 2007. Los casos de dengue reportados a la Organización Panamericana de la Salud se analizaron a partir de tres períodos: 1980-1989 (años 80), 1990-1999 (años 90) y 2000-2007.

El total de casos de Dengue reportados en la región fueron 1.033.417 (16.4/100000) durante los años 80, 2.725.405 (35.9/100 000) durante los años 90, y 4.759.007 (71.5/100, 000) durante 2000-7. Del mismo modo, el número de casos de Dengue hemorrágico aumentó en el tiempo de 13.398 (0.2/100, 000) durante los años 80, a 58.419 (0.8/100, 000) durante los años 90, y 111.724 (1.7/100, 000) durante 2000-7. Los casos de Dengue hemorrágico en porcentaje del total de casos de Dengue también aumentó de 1,3% a 2,1% y a 2,4%.

Los ciclos epidémicos se observaron cada 3-5 años con una mayor frecuencia de casos de Dengue hemorrágico (Ver Figura 7).

Figura 7. Casos de Dengue y Dengue hemorrágico en las Américas durante 1980 - 2007.



Fuente: San Martin JL, Brathwaite O. The epidemiology of Dengue in the Americas over the last three decades: A worrisome reality. Am. J. Trop. Med. Hyg., 82(1), 2010, pp. 128-135.

Desde 1980 hasta 1987, se reportaron 242 defunciones (1,8% del total de casos de Dengue hemorrágico) en comparación con 1391 muertes durante 2000-7 (1,2% del total de casos de dengue hemorrágico).

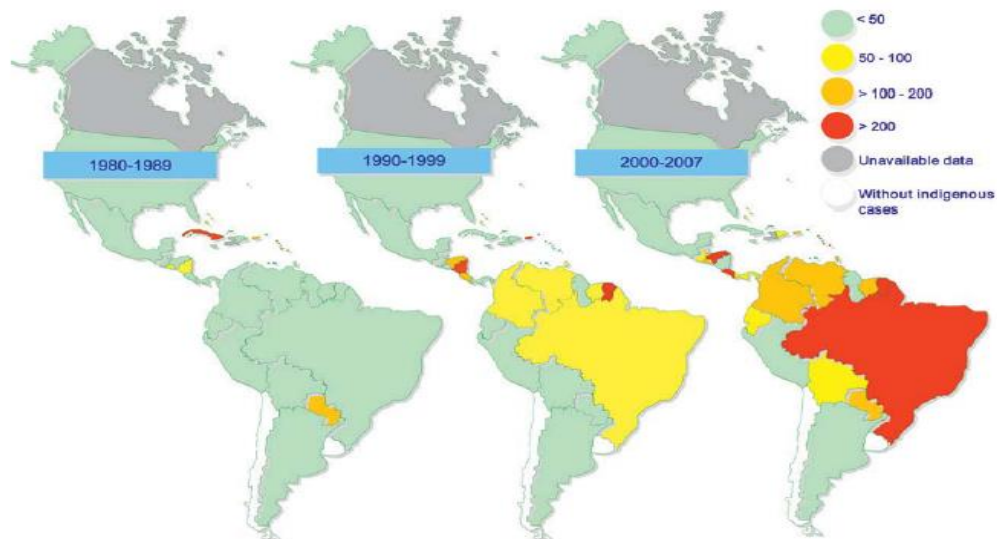
El Cono Sur y la subregión Andina informó la mayor proporción de casos durante los años 90: el 55% (66.3/100000) para el Cono Sur y el 20,7% (55.9/100000) para la subregión Andina.

En 2000-7, la proporción de casos se mantuvo aproximadamente la misma, pero la incidencia aumentó considerablemente: 64,2% (155.3/100000) para el Cono Sur y 19% (97.7/100, 000) para la subregión Andina.

Curiosamente, dos diferentes regiones presentan el mayor porcentaje de casos durante los 80: El Caribe Hispano 39,1% (210.5/100000), y América Central / México 27.2% (28.7/100000). En general, se informó aumentó de casos en el tiempo en la mayoría de las subregiones.

Del mismo modo, la mayoría de los casos de Dengue hemorrágico y la mayor incidencia de la enfermedad ocurrió en el Caribe hispano en los años 80: 77,5% (5.5/100000), la subregión Andina, informó la mayoría de los casos de Dengue Hemorrágico durante los años 90: 83,4% (4.8/100000) y 2000-7: 58,5% (7.1/100000). El número de países con una incidencia media superior de 100/100000 aumentó de 5 en los años 80, a 7 durante los 90 y a 15 en 2000-7 (Ver Figura 8).

Figura 8. Incidencia del Dengue en las Américas, 1980-2007.



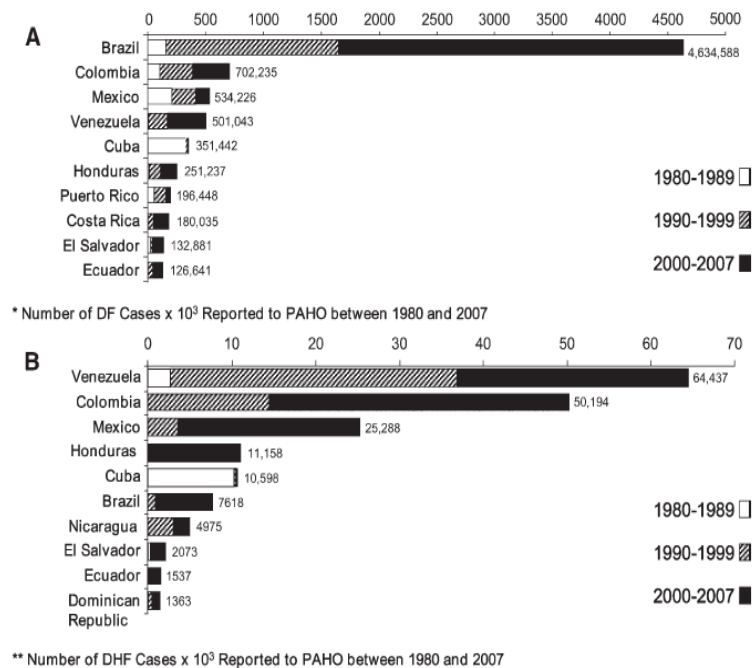
Fuente: San martin JL, Brathwaite O. The epidemiology of Dengue in the Americas over the last three decades: A worrisome reality. Am. J. Trop. Med. Hyg., 82(1), 2010, pp. 128-135.

Brasil informó la mayoría de casos de Dengue (54,5%) durante el período de estudio de 27 años, pero ocupó el sexto lugar en el total de casos de Dengue hemorragico (Ver Figura 9). Venezuela reportó el mayor número de casos de

dengue severo (35,1%) durante el mismo período. Durante los años 80 por el contrario, Cuba experimentó el mayor número de casos de Dengue y Dengue hemorrágico.

Para finales de 2007, sólo dos países (Uruguay y Chile) tenían ausencia de transmisión autóctona. La transmisión endémica del Dengue se informó en la Isla de Pascua, un territorio chileno en el Océano Pacífico (38).

Figura 9. A. Países con mayor número de casos de Dengue en las Américas 1980-2007. B. Países con mayor número de casos de Dengue hemorrágico en las Américas 1980-2007.



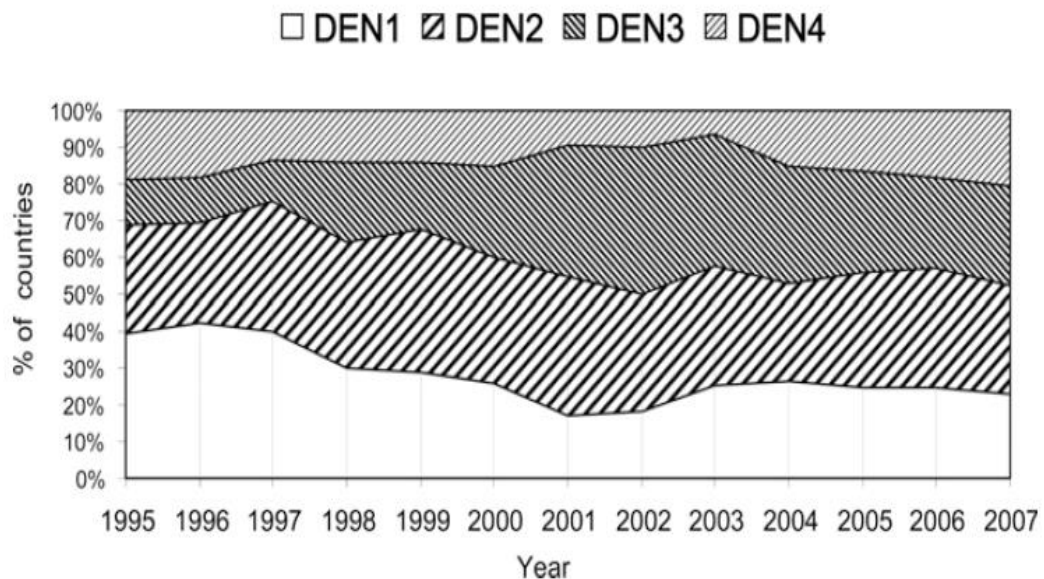
Fuente: San martin JL, Brathwaite O. The epidemiology of Dengue in the Americas over the last three decades: A worrisome reality. Am. J. Trop. Med. Hyg., 82(1), 2010, pp. 128-135.

7.7.5 Serotipos del dengue. Durante 1995 y 1999, los cuatro serotipos fueron reportados en América Central y el Caribe. Los serotipos DENV-1, DENV-2 y DEN-4 fueron detectados en la subregión Andina, pero sólo DENV-1 y DENV-2 estaban circulando en el Cono Sur. Para 2000-7, los cuatro serotipos estaban circulando en América, con excepción del Cono Sur, donde sólo el DENV-4 no se detectó durante el período.

El número de países con ≥ 3 serotipos circulantes en un año dado fue de 5 en 1995-1999 y aumento a 15 en 2000-7.

Los serotipos circulantes informados con mayor frecuencia durante los años 90 fueron DENV-1 y DENV-2. Este patrón ha cambiado durante el 2000-7 cuando DENV-2 y DEN-3 fueron los serotipos más informados (Ver Figura 10).

Figura 10. Porcentaje de países reportando los serotipos de dengue por año a la OPS en la región de las Américas, 1995 – 2007.



Fuente: San Martin JL, Brathwaite O. The epidemiology of Dengue in the Americas over the last three decades: A worrisome reality. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 82(1), 2010, pp. 128-135.

La circulación de DENV-3 a aumentado en todo el continente americano después de su introducción en la subregión Andina y en el Cono Sur en el año 2000.

Distribución por edad de los casos:

En general, la incidencia de Dengue Hemorragico por grupo de edad fue similar a la observada para el Dengue.

Los informes de casos indican que las mujeres eran más frecuentemente infectadas con Dengue que los hombres. La razón hombre: mujer oscilaba entre 1:1.22 a 1:1.34 en Brasil durante 2001-5 y entre 1:1.27 a 1:1.41 en México durante los años 2003 a 2007.

Otras características epidemiológicas:

DENV-1 fue reportado por primera vez en el región en 1977, causando una epidemia, que comenzó en Jamaica y ampliado a Cuba, Puerto Rico, Colombia, y, finalmente, con el resto de los países del Caribe, México, Centro Estados Unidos y los países del norte de América del Sur.

DENV-2 causó la primera epidemia de Dengue hemorrágico en la región en Cuba en 1981 (34). En el mismo año, DENV-4 se introdujo en las islas del Caribe oriental. Este serotipo luego se expandió al resto del Caribe y Centroamérica, América del Sur y México (35).

7.7.6 El vector. En las Américas el único vector conocido es el *Aedes aegypti* (Ver Figura 11), un mosquito perteneciente al subgénero *Stegomyia* del que también hacen parte el *Aedes albopictus*, *Aedes poliniesencis* y *Aedes escutellacis* los que pueden actuar también como vectores en otros continentes.

Aedes aegypti es originario de África y fue introducido al nuevo continente debido al comercio de esclavos, encontrándose inicialmente en las ciudades costeras, pero posteriormente se diseminó de forma marcada por todo el continente.

En Colombia al parecer el vector penetró al interior del país desde Cartagena cuando se estableció la navegación por el río Magdalena y, para 1880, se detectó en Neiva, Huila.

Figura 11. Aedes Aegypti.



Fuente: P. Cameron Simmons, Ph.D., Jeremy J. Farrar, MD, Ph.D., Nguyen Van Vinh Chau, MD, Ph.D., y las voluntades de Bridget, MD, MS. Dengue. N Engl J Med 2012; 366:1423-1432.

La campaña de erradicación del Aedes aegypti en Colombia empezó en 1952, y como consecuencia el país permaneció libre del mosquito entre 1961 y 1967, excepto en la ciudad de Cúcuta. El éxito de la campaña de erradicación se debió a la susceptibilidad del artrópodo al DDT. Sin embargo, en 1960, en material de Aedes aegypti procedente de Norte de Santander, se detectó por primera vez en Colombia resistencia al DDT.

Es a partir de 1968 que comienza a re infectarse el país siguiendo las rutas de los ríos Magdalena y Cauca, detectándose este mosquito en Bucaramanga y Ocaña en 1975 y en Villavicencio, Meta y Florencia (Caquetá), en 1976.

Este mosquito abunda en áreas tropicales, en alturas que varían entre los 0 y los 2.200 metros sobre el nivel del mar y entre una latitud de 45N a 35S. Su hábitat es netamente domiciliario preferencialmente los sitios oscuros de las casas como armarios, baños, etc. se reproduce en aguas relativamente limpias especialmente en sitios de almacenamiento de esta o en depósitos de agua lluvias. El más alto

índice Aédico se encuentra en estaciones lluviosas o en casos de sequías prolongadas asociadas al almacenamiento inadecuado de agua.

El mosquito tiene un área de vuelo limitado de 200 metros, característicamente pica en horas diurnas y lo hace en múltiples oportunidades, especialmente en sitios donde es difícil observarlo (tobillos, parte posterior de las piernas, codos etc.).

El ciclo viral en el mosquito se inicia cuando el insecto pica a un individuo infectado con el virus, produciéndose dentro del mosquito la replicación viral, proceso que se lleva a cabo en la glándula salival del insecto, estando éste listo para convertirse en un eficiente vector en un promedio de 3 a 10 días.

La humedad y la temperatura afectan la transmisión del dengue así:

- En algunas oportunidades el mosquito puede ser más abundante durante unas épocas del año en comparación con otras.
- La humedad hace que la sobrevivencia del mosquito sea más larga.
- La circulación de agua fría proporciona al mosquito el microambiente durante el verano.
- El tiempo que transcurre entre la ingestión del virus y su llegada a las glándulas salivares depende también de la temperatura.
- La temperatura además afecta la maduración del mosquito; con altas temperaturas, se producirán hembras más pequeñas que necesitarán más cantidad de proteínas obtenidas de la sangre para llegar a generar huevos, lo que hace a la larga se aumente el número de picadura y por ende el número de infectados por una sola hembra.

7.7.7 El virus dengue. El virus del dengue es un virus RNA de cadena simple, perteneciente a la familia Flaviviridae. Existen 4 serotipos, clasificados de acuerdo a criterios biológicos e inmunológicos. El virión maduro está conformado por 3

proteínas estructurales (Núcleo, membrana del núcleo, envoltura) y 7 proteínas no estructurales (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, NS5)

La envoltura proteica está involucrada en diferentes funciones biológicas del virus. Esta se fija a receptores en las células huésped, permitiendo el transporte del virus a través de éstas. Además la envoltura proteica está asociada con hemoaglutinación de eritrocitos, inducción de anticuerpos neutralizantes y respuesta inmune protectora.

Después de un período de incubación de 4 a 10 días, la infección causada por cualquiera de los cuatro serotipos del virus puede producir una gran variedad de alteraciones, aunque la mayoría de las infecciones son asintomáticas o subclínicas. Se conoce que la infección primaria induce inmunidad protectora de por vida contra el serotipo causante de la infección. Las personas que sufren una infección están protegidas contra la enfermedad clínica por un serotipo diferente en los siguientes dos a tres meses de la infección primaria, pero no tienen inmunidad protectora cruzada a largo plazo.

Los factores individuales de riesgo determinan la gravedad de la enfermedad e incluyen infección secundaria, edad, raza y posibles enfermedades crónicas (asma bronquial, anemia de células falciformes y diabetes mellitus). Los niños pequeños, en particular, pueden tener menor capacidad que los adultos para compensar la extravasación de plasma capilar y, por consiguiente, están en mayor riesgo de choque por dengue.

La activación de la respuesta inmune por la infección del virus del dengue y su papel en la patogénesis del dengue ha sido apoyada por la presencia de altos niveles de IL-2, IL-6, TNF- α e IFN en suero de los pacientes, o sobrenadantes de virus del dengue-activando macrófagos y los linfocitos humanos y un incremento en la expresión de LT α , IL-4, IL-2 e IFN y estimulando CD4 + y CD8 + linfocitos T de donantes inmunes al dengue. Estos datos sugieren la posibilidad de que la activación de la respuesta inmune por la infección del virus del dengue puede estar asociada con manifestaciones hemorrágicas, aumentando la permeabilidad de las células endoteliales. In vitro. Se sabe que la producción de óxido nítrico es inducida como mecanismo de defensa contra muchas infecciones virales y promueve la apoptosis y los procesos anti-apoptóticos para evitar daños en los tejidos.

El riesgo de enfermedad grave aumenta si se trata de una infección secundaria. Esto se debe a que los anticuerpos preexistentes no neutralizantes contra el serotipo anterior pueden aumentar el número de monocitos infectados, resultando en más células presentadoras de antígeno virales del dengue a los linfocitos T y una activación más intensa de la respuesta inmune.

7.7.8 Fisiopatología del dengue. El dengue puede ser causado por cualquiera de los serotipos virales. Generalmente, la infección por uno de los serotipos confiere inmunidad protectora contra ese serotipo en particular, pero no contra los otros serotipos. De este modo, al presentarse una segunda infección por un serotipo diferente, puede ocurrir una infección más severa. Esto se asocia con una respuesta inmune dependiente de anticuerpos no neutralizantes desarrollados durante la primera infección.

Después de la picadura del mosquito infectado, el virus Dengue se replica dentro de las células mononucleares como macrófagos, monocitos y células B. Adicionalmente también se infectan células dendríticas, mastocitos y células endoteliales. La viremia que se presenta lleva al virus a tejidos y otras células del organismo que se convierten en tropicas para el virus y donde éste tendrá capacidad de multiplicarse, es el caso de las células del tracto gastrointestinal, del sistema fagocito-macrófago y del sistema nervioso central.

El virus de Dengue tiene predilección por órganos del sistema Reticulo Endotelial: médula ósea, bazo, hígado y ganglios linfáticos, donde puede ser detectado por diferentes métodos inmunológicos y la reacción en cadena de la polimerasa.

El período de incubación de la infección es de 7 a 10 días; a éste le sigue la fase virémica en la cual el paciente está febril e infectante. Luego el paciente puede recuperarse o progresar a la fase de fuga capilar llegando a Dengue Severo. El pico de la viremia en el plasma se correlaciona con la severidad de las infecciones por Dengue.

La respuesta inmune involucra varios aspectos; anticuerpos, citoquinas y células frente a los virus dengue.

La respuesta inmune dependiente de anticuerpos juega un papel clave en la patogénesis de las infecciones severas. Durante las infecciones secundarias de Dengue, los anticuerpos presentes en el paciente, forman complejos con el virus.

La porción Fc de estos anticuerpos pueden fijarse a los receptores celulares FcRI y FcRII resultando en un número incrementado de células infectadas por el virus.

Varios grados de trombocitopenia son comunes en la infección por virus Dengue. Algunos de los mecanismos responsables de esto incluyen: Anticuerpos antiplaquetarios tipo IgM, anticuerpos específicos para virus Dengue, hipocelularidad en la médula ósea o destrucción de plaquetas en el hígado y el bazo. Los anticuerpos antiplaquetarios causan lisis plaquetaria en presencia de complemento. Estos se encuentran en altas concentraciones en los pacientes con Dengue severo. El serotipo Dengue 2 se fija a las plaquetas humanas solo en presencia de anticuerpos específicos contra el virus lo que soporta el rol de la destrucción plaquetaria mediada inmunológicamente.

Desde el año 2000 en el sudeste asiático se ha replanteado un cuadro de compromiso más amplio mediado indudablemente por el sistema inmune y su activación pero enfoca a nuevas células comprometidas. Sin embargo, partimos de la célula endotelial quien será multiagredida empezando por los anticuerpos anticélula endotelial que la lesionan llevándola a la apoptosis, seguido de la activación de la célula a partir de citoquinas proinflamatorias. La célula endotelial activada tiene la capacidad de producir más citoquinas proinflamatorias contribuyendo al rápido incremento en los niveles séricos de mediadores tales como el TNF α , sTNFR, IL-2, IL-6, IL-8, PAF, IFN γ , C3a, C5a e histamina y el efecto sinérgico entre estas sustancias induce disfunción del endotelio vascular lo que conduce al aumento en la permeabilidad vascular y al choque.

El daño capilar permite a los líquidos, los electrolitos, las proteínas y en algunos casos los eritrocitos escapar hacia los espacios extravasculares. Esta redistribución interna de líquidos junto con déficit debido al ayuno, la sed y los vómitos, tiene como resultado la hemoconcentración, la hipovolemia, mayor gasto cardiaco, hipoxia tisular, acidosis metabólica e hiponatremia¹.

De forma sinérgica puede producirse un grado ligero de coagulación intravascular diseminada, trombocitopenia y daño hepático.

El consumo de factores de la coagulación se verá incrementado, presentándose una alteración en la relación del factor activador del plasminogeno tisular y su

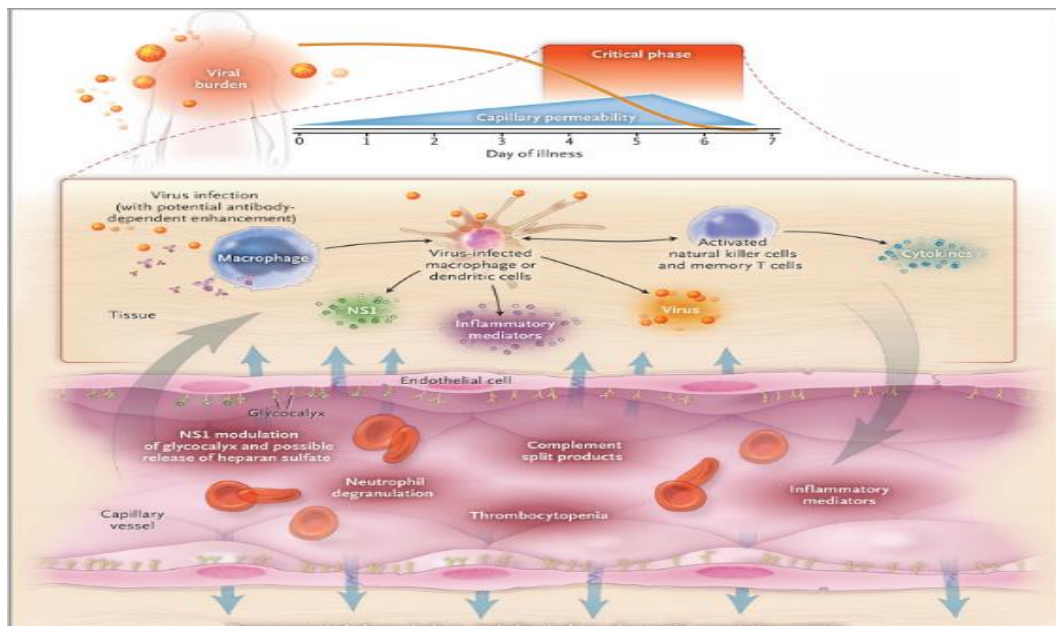
inhibidor contribuyendo aún más a las alteraciones de la cascada de la coagulación y facilitando los sangrados característicos de la enfermedad.

La segunda célula blanco es la plaqueta quien sufre acción directa de anticuerpos IgM contra algunas proteínas del virus es decir por mimetismo molecular, es activada por los mediadores liberados y sufre atrapamiento en el endotelio lesionado.

Otras células comprometidas son el hepatocito y la célula de Kupffer que se ven afectadas por acción viral directa generando muerte y necrosis por citoquinas proinflamatorias que activan la cascada oxidativa y autolesionan a la célula; la apoptosis condiciona más daño y lleva a un verdadero cuadro de hepatitis como se demuestra en la Figura 12, donde además se pueden observar todos los efectos tanto celulares como humorales en las células involucradas.

Hoy en día se han señalado factores genéticos y la presencia del mediador de activación temprana “CD69” de linfocitos CD8 como predisponentes para formar hemorragias.

Figura 12. Inmunopatogénesis del Dengue.



Fuente: P. Cameron Simmons, Ph.D., Jeremy J. Farrar, MD, Ph.D., Nguyen Van Vinh Chau, MD, Ph.D., y las voluntades de Bridget, MD, MS. Dengue. N Engl J Med 2012; 366:1423-1432.

7.7.9 Manifestaciones clínicas. El dengue tiene un amplio espectro de presentaciones clínicas y resultados impredecibles. Aunque la mayoría de los pacientes se recuperan después de un curso clínico benigno y de resolución espontánea, una pequeña proporción progresa a una enfermedad grave, caracterizada principalmente por aumento de la permeabilidad vascular, con hemorragia o sin ella. La rehidratación intravenosa es el tratamiento de elección; esta intervención puede reducir la tasa de letalidad a menos de 1% en los casos graves. Resulta difícil determinar cuál grupo progresa de la forma no grave a la grave de la enfermedad, lo que genera una gran preocupación, pues el tratamiento apropiado puede evitar que se desarrollen condiciones clínicas más graves.

Dentro del curso de la enfermedad por virus dengue podemos distinguir etapas ó fases clínicas evolutivas:

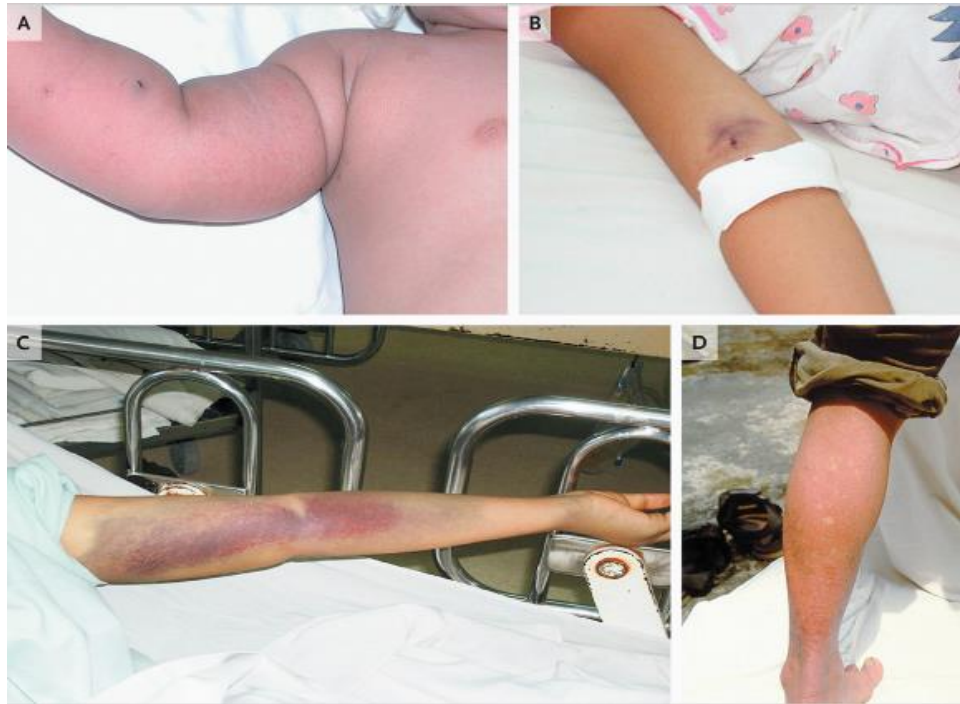
1. Fase febril: La fase aguda dura de 2 a 7 días y a menudo está acompañada de rubor facial, eritema difuso, mialgias generalizadas, artralgias y cefalea. Algunos pacientes pueden tener odinofagia, faringe inyectada e inyección conjuntival. También son comunes la anorexia, náuseas y vómito. En la primera fase febril temprana, puede ser difícil el distinguir clínicamente el Dengue de otras enfermedades febriles que no tienen relación alguna con el Dengue.

Se pueden observar manifestaciones hemorrágicas leves, como petequias y sangrado de mucosas, lo cual se puede demostrar con prueba de fragilidad capilar por una prueba de torniquete positiva. El sangrado gastrointestinal puede ocurrir en esta fase, pero no es lo común. El hígado a menudo está aumentado de tamaño y blando después de algunos días de fiebre. La anormalidad más temprana en el cuadro hemático es una reducción progresiva del número total de glóbulos blancos, lo cual debe alertar al médico de una alta probabilidad de dengue.

Durante este periodo es donde mayormente se pueden presentar trastornos neurológicos y convulsiones febriles en los niños más pequeños.

2. Fase crítica: Alrededor del momento de la disminución de la fiebre (defervescencia), cuando la temperatura cae a 37,5 °C o 38 °C o menos y permanece por debajo de este valor, usualmente en los días 3 a 7 de la enfermedad, se puede presentar un aumento en la permeabilidad capilar junto con mayores valores del hematocrito. Esto marca el inicio de la fase crítica. El período de extravasación de plasma dura generalmente entre 24 y 48 horas.

Figura 13. Manifestaciones hemorrágicas del Dengue.



Fuente: P. Cameron Simmons, Ph.D., Jeremy J. Farrar, MD, Ph.D., Nguyen Van Vinh Chau, MD, Ph.D., y las voluntades de Bridget, MD, MS. Dengue. N Engl J Med 2012; 366:1423-1432.

La leucopenia progresiva seguida de una rápida disminución del número de plaquetas precede usualmente la extravasación de plasma. Durante esta fase de acuerdo al grado de extravasación del paciente, si ésta es severa, puede llevar al paciente a desarrollar choque Dengue y Dengue grave (hepatitis, miocarditis, encefalitis), con notorio aumento de la morbimortalidad. Algunos pacientes con una forma no grave de Dengue no desarrollan fuga vascular y mejoran en forma constante después de la defervescencia. El choque prolongado sin corregir, acidosis metabólica, y trombocitopenia puede empeorar la coagulación intravascular diseminada, lo que puede, a su vez, conducir a una hemorragia masiva desencadenando así una espiral progresiva al choque y hemorragia; éstos pacientes tiene un alto riesgo de muerte.

Aparte del choque o hemorragia, otras consecuencias de la permeabilidad capilar son la hemoconcentración, hipoalbuminemia y colecciones de fluido seroso, usualmente efusión pleural y ascitis, la extensión de esto depende tanto de la magnitud de la pérdida de plasma y el volumen de fluidos consumidos o prescritos.

Sangrado Severo: Los más frecuentes son los gastrointestinales. Sin embargo, en los pacientes con dengue severo con trombocitopenia y trastornos de la coagulación, los sangrados que amenazan la vida son raros.

El factor de riesgo más importante, es el shock prolongado, complicado con acidosis e hipoxia. Otros factores de riesgo son la disfunción hepática y renal, exposición a medicamentos (AINES); y procedimientos como colocación de sondas nasogástricas, punciones arteriales, e inyecciones intramusculares.

3. Fase de recuperación: Si el paciente sobrevive a la fase crítica de 24 a 48 horas, en las siguientes 48 a 72 horas tiene lugar una reabsorción gradual de los líquidos del compartimiento extravascular.

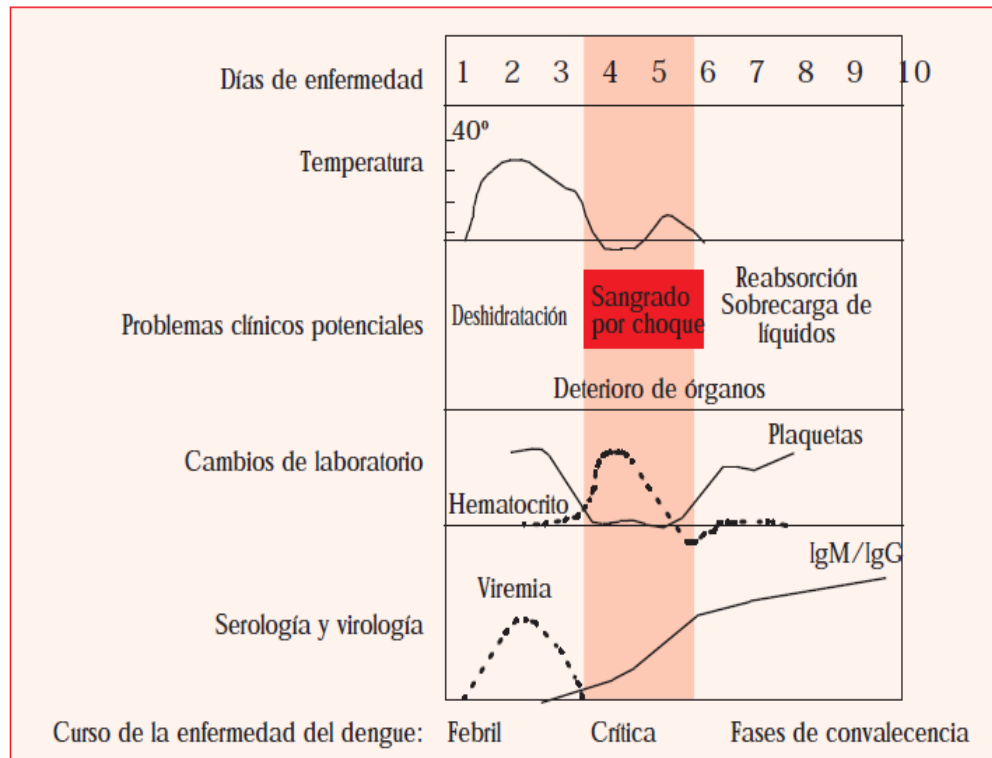
Mejora el bienestar general, regresa el apetito, disminuyen los síntomas gastrointestinales, se estabiliza el estado hemodinámico.

Algunos pacientes pueden tener una erupción parecida a “islas blancas en un mar rojo”, y pueden presentar prurito generalizado. Son comunes en esta etapa la bradicardia asintomática y los cambios en el electrocardiograma.

El hematocrito se estabiliza o puede ser menor debido al efecto de dilución de los líquidos reabsorbidos. El conteo de leucocitos generalmente comienza a subir inmediatamente después de la disminución de la fiebre, aunque la recuperación del número de plaquetas generalmente es posterior al del número de leucocitos.

El reconocimiento de esta fase es importante, para disminuir inmediatamente el aporte de fluidos por vía intravenosa. Esta simple intervención puede evitar sobrecarga de líquidos, que, junto con hemorragias graves, es una causa importante y evitable de muerte por dengue. (Ver Figura 14).

Figura 14. Curso de la enfermedad del Dengue.

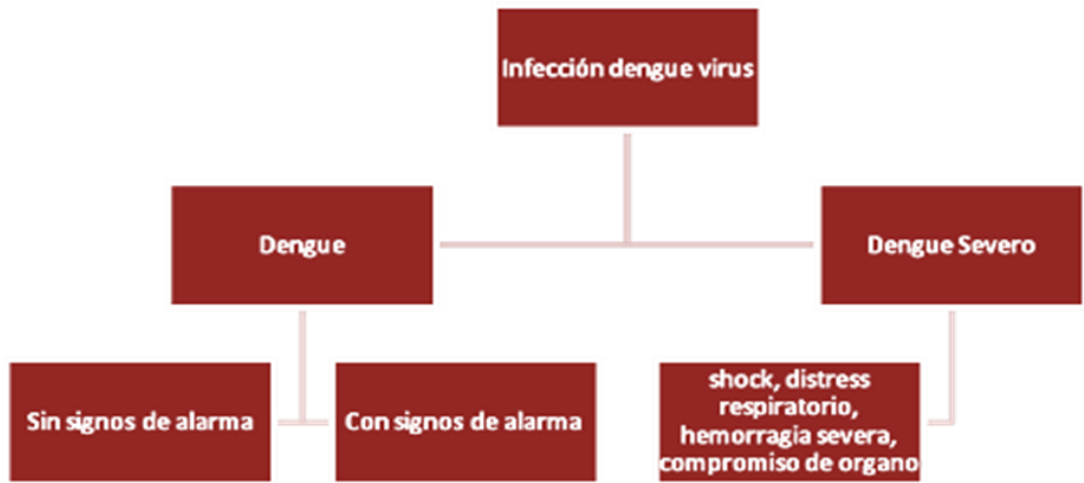


Fuente: Dengue: guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. Nueva edición 2009. Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Programa Especial para Investigación y Capacitación en Enfermedades Tropicales (TDR).

La clasificación según la gravedad tiene un gran potencial para su uso, para decidir dónde y cuándo intensivamente se debe observar y tratar al paciente.

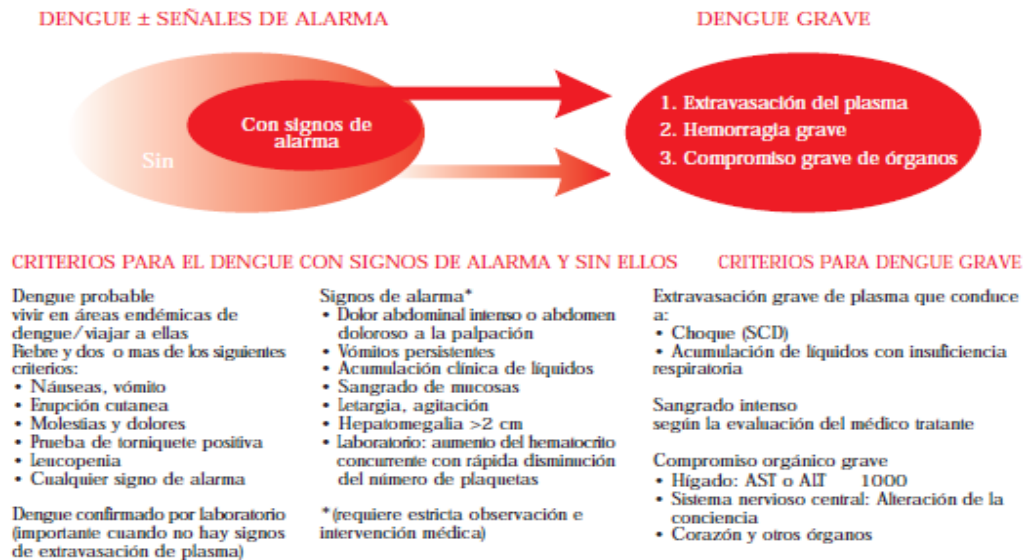
La amplia diseminación de la enfermedad en diferentes continentes y el entender a la enfermedad como un continuo con diferentes expresiones clínicas desde formas leves hasta otras severas y mortales pero con un curso impredecible en su evolución, generó la necesidad de una modificación a la clasificación de la enfermedad, por la Organización Mundial de la Salud (OMS) a partir del año 2009 (OMS TDR) que divide el dengue en dos grandes categorías, Dengue con y sin signos de alarma y dengue grave o severo (Ver Figuras 15 y 16).

Figura 15. Clasificación del Dengue, OMS 2009.



Fuente: Dengue: guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. Nueva edición 2009. Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Programa Especial para Investigación y Capacitación en Enfermedades Tropicales (TDR).

Figura 16. Clasificación de casos de Dengue sugerida y niveles de gravedad.



Fuente: Dengue: guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. Nueva edición 2009. Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Programa Especial para Investigación y Capacitación en Enfermedades Tropicales (TDR).

Se debe realizar control clínico diario de tensión arterial, pulso, temperatura, respiración, palpación abdominal, incluyendo prueba diaria del torniquete con el tensiómetro.

Exámenes para clínicos al primer contacto, hemoglobina, hematocrito, recuento de leucocitos, que deben ser repetidos en los casos en que la clínica no evoluciona hacia la mejoría o aparece hepatomegalia.

Instrucciones precisas con respecto al tratamiento, que debe estar basado en el mantenimiento de las medidas generales: abundante líquido por vía oral, acetaminofén si la fiebre es muy elevada, medios físicos para el control de la temperatura, recomendar reposo y uso de toldillo.

No se debe usar aspirina, antialérgicos, esteroides y AINES, así como evitar la vía intramuscular (39).

7.7.10 Dengue y coagulación. La característica patognomónica de dengue es la generación de un aumento de la permeabilidad vascular sistémica que resulta en reducción del volumen plasmático intravascular, con la progresión a shock hipovolémico en los casos graves.

Este proceso patológico se invierte espontáneamente después de unos días y la mayoría de los pacientes se recuperan con un tratamiento de soporte apropiado.

En los niños, las manifestaciones hemorrágicas menores se observan con frecuencia, pero el sangrado importante es inusual excepto en asociación con shock profundo.

El consumo de factores de la coagulación se ve incrementado y por tanto se verá afectada la relación del factor activador del plasminogeno tisular y su inhibidor contribuyendo aún más a las alteraciones de la cascada de la coagulación y facilitando los sangrados característicos de la enfermedad.

La trombocitopenia y la coagulopatía son también características destacadas de la infección sintomática.

Varios grados de trombocitopenia son comunes en la infección por Dengue y algunos de los mecanismos responsables de esto incluyen: Anticuerpos antiplaquetarios tipo IgM, anticuerpos específicos para virus dengue, hipocelularidad en la médula ósea o destrucción de plaquetas en el hígado y el bazo.

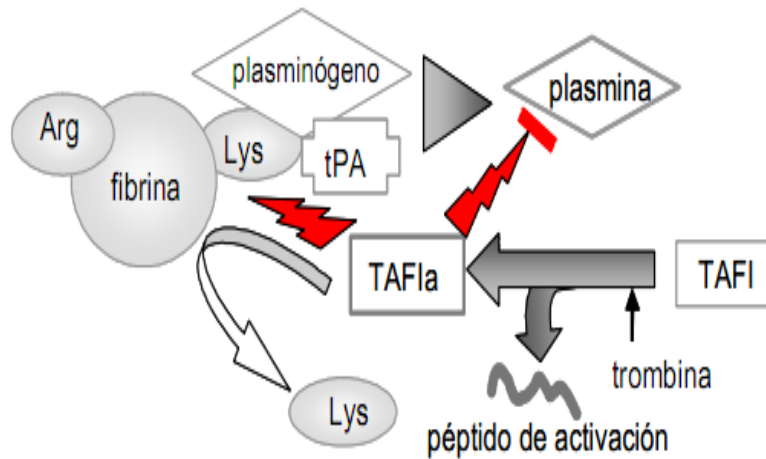
Los anticuerpos antiplaquetarios causan lisis plaquetaria en presencia de complemento.

Se ha demostrado una activación de la fibrinólisis y anticoagulantes naturales en pacientes con Dengue, mediada por TAFI, el t-PA, PAI-1, PC activado.

7.7.10.1 Inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina (TAFI) (Ver Figura 17).

- Es una carboxipeptidasa.
- Peso molecular: 55000 Dalton
- Compuesto por 401 aminoácidos.
- Es sintetizado en hígado.
- Concentración: 75 nmol/L.
- Vida media: 9-15 min.
- Activadores: Plasmina >> trombina.
- Especifico: Residuo Carboxi – terminal de Lys y Arg.

Figura 17. Activación del TAFI y su acción sobre la cascada de la fibrinólisis.



Fuente: Soonthikul D, Seksarn P, Pongsewalak S, Thisyakorn U, Lusher J. Activation of endothelial cells, coagulation and fibrinolysis in children with Dengue virus infection. *Thromb Haemost* 2007 Apr; 97 (4): 627–634.

Es activado por acción de la trombina, en presencia de trombosmodulina.

En 1995 se purificó y caracterizó un nuevo inhibidor de la fibrinólisis. Se trata de una proteína de la familia de las carboxipeptidasas que está involucrada en la regulación del balance entre coagulación y fibrinólisis. Aunque se ha denominado de muchas maneras (procarboxipeptidasa U, procarboxipeptidasa R y procarboxipeptidasa plasmática B), finalmente ha recibido el nombre de inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina (TAFI).

Esta molécula se sintetiza en el hígado, aunque se cree que las plaquetas también pueden secretarla desde sus gránulos α al torrente sanguíneo bajo determinadas circunstancias de estimulación protegiendo, de esta manera, al coágulo incipiente de su degradación. El TAFI circula en forma de procarboxipeptidasa de 401 aminoácidos y 55 kDa, a diferencia de la otra carboxipeptidasa plasmática, la carboxipeptidasa N, que también se sintetiza en el hígado pero se libera a la circulación en su forma biológicamente activa. Cuando el TAFI se transforma en TAFI activado (TAFIa, dominio catalítico Ala93-Val401: 309 aminoácidos y 35 kDa) durante la coagulación, se libera el llamado péptido de activación (Phe1-Arg92: 92 aminoácidos y 20 kDa). El TAFIa tiene una vida media de 9 a 15 minutos a 37°C (40).

Para entender el mecanismo de acción del TAFI, es necesario recordar que la cascada de la fibrinólisis se desencadena cuando el plasminógeno y el tPA se fijan en la superficie de la fibrina parcialmente degradada, concretamente sobre residuos de aminoácidos básicos (arginina o lisina). El TAFIa elimina esos residuos de lisina o arginina de la superficie de la fibrina gracias a su actividad carboxipeptidasa B. De esta manera evita el anclaje del plasminógeno y del tPA a la fibrina y, en definitiva, la transformación del plasminógeno en plasmina. Además, el TAFIa en grandes concentraciones puede incluso inhibir directamente a la plasmina.

La activación del TAFI por la trombina es un proceso ineficaz y depende de la cantidad de trombina generada durante la formación del coágulo. Por lo tanto, todos los factores capaces de modificar la generación de trombina modularán en mayor o menor grado la transformación de TAFI en TAFIa.

Se ha estudiado el papel del TAFI en el contexto de determinadas patologías. Así, se han encontrado niveles elevados de TAFI en pacientes con trombosis venosa profunda y niveles reducidos de TAFI en pacientes con coagulación intravascular diseminada en los que existe un ambiente de hipercoagulabilidad e hiperfibrinólisis. En enfermedades con manifestaciones hemorrágicas como la hemofilia A y B, los niveles de TAFI se encontraron disminuidos y los parámetros de hiperfibrinólisis se normalizaron con la adición de factor VIII, TAFI o trombomodulina (41).

La patogénesis de la hemorragia en la infección por el virus Dengue no se entiende completamente. Mecanismos de sangrado en la infección por dengue son vasculopatía, trombocitopenia, coagulopatía y coagulación intravascular diseminada (CID). El sistema de coagulación - fibrinólisis parece ser anormal durante la infección y se manifestaría con la disminución de los niveles de fibrinógeno, aumento de los niveles de los productos de degradación del fibrinógeno (FDP), prolongación en el tiempo parcial de tromboplastina, bajos niveles de factores de coagulación VIII y XII, plasminógeno, protrombina, y α -2-antiplasmina (42,43,44).

La presencia del dímero D (DD) indica activación del sistema de coagulación resultante de la destrucción de la fibrina entrecruzada y refleja formación de coágulo y lisis (42,45,46).

En un estudio de Kittiya Setrkraising llamado Dímero-D como un indicador de la gravedad del dengue, y cuyo objetivo era determinar la relación entre los niveles de dímero D (DD) y la evolución clínica de los pacientes con dengue, se planteó la hipótesis: El estado de DD se correlaciona con la severidad del dengue.

Dentro de los resultados se obtuvieron los siguientes datos: 41 pacientes con dengue, 22 niñas y 19 niños, fueron reclutados en el estudio. La edad media fue de 9,68 años. Hubo 12 (29,3%) casos de fiebre del dengue (FD) y 29 (70,7%) casos de dengue hemorrágico (DH). El DD fue significativamente más alto en el grupo de DH (87%) que en el grupo DF (13%) ($p < 0,03$). La sensibilidad y la especificidad de DD en la predicción de casos graves de dengue (FHD) fueron del 90% y 67%, respectivamente. El análisis secuencial de DD mostró niveles más altos en todas las etapas de la infección del dengue. Se concluyó que el DD correlaciona con la gravedad de la enfermedad (42).

8. INSTRUMENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Los datos se recolectaron en un formato simple variables específicas, las cuales incluían fecha de ingreso, número de historia clínica, edad, sexo, seguridad social, días de fiebre, reporte de plaquetas y resultados de Dímero D, Fibrinógeno, Tiempo de Protrombina (PT), Tiempo parcial de tromboplastina (TPT). Formato que se encuentra en el Anexo A.

- Se tomó la fecha de ingreso teniéndose en cuenta el día, mes y año (dd/mm/aa).
- Se registró la Historia clínica, expresada en números.
- La variable edad se tabuló en grupos etáreos, por meses así; de 0 a 24 (Lactante), 25 a 60 (Preescolar), 61 a 144 (Escolar), 145 a 168 (Adolescente).
- Los datos de laboratorio serán consignados en el formato que se presenta en Anexo B.

9. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El desarrollo del presente trabajo de investigación, atiende a los aspectos éticos que garantizan la dignidad y bienestar del paciente a investigación, ya que conlleva un riesgo moderado para el paciente de acuerdo al reglamento de la ley general en salud en materia de investigación para la salud, es considerado UNA INVESTIGACION CON RIESGO MODERADO (Categoría II), es decir investigación que comprende encuestas o entrevistas que invaden la privacidad de las personas, estudios o registro de datos por medio de procedimientos diagnósticos de rutina (físicos o psicológicos), como por ejemplo la extracción de sangre.

Por otra parte los procedimientos propuestos en la presente investigación, están de acuerdo con las normas éticas y con la declaración de Helsinki y con los códigos y normas internacionales vigentes de las buenas prácticas de la investigación clínica.

10. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

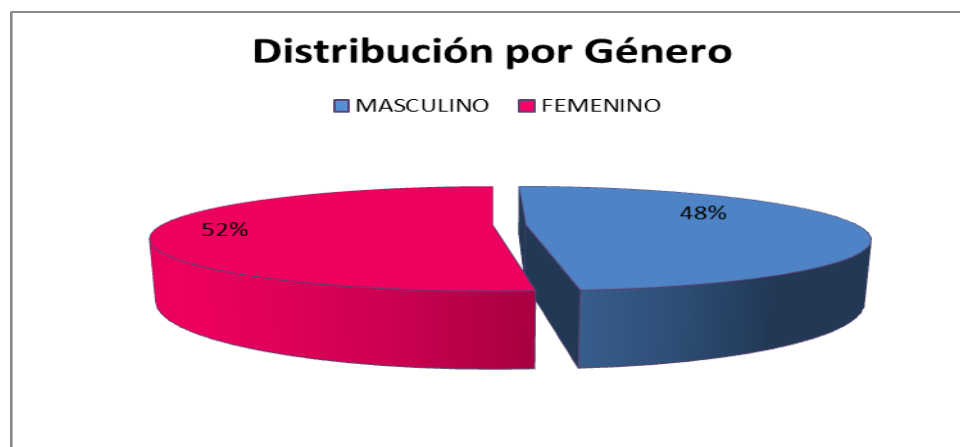
AÑO	MES	ACTIVIDAD
2011	Enero	Revisión de literatura, Dímero D, Fibrinólisis, Manifestaciones Hemorrágicas en dengue.
	Febrero	Reunión y exposiciones de literatura / definición de técnica de investigación.
	Marzo	Inicio de recolección de datos.
	Abril	Recolección de datos.
	Mayo	Recolección de datos.
	Junio	Recolección de datos.
	Julio	Recolección de datos.
	Agosto	Recolección de datos.
	Septiembre	Recolección de datos.
	Octubre	Recolección de datos.
	Noviembre	Recolección de datos.
	Diciembre	Recolección de datos.
2012	Enero	Recolección de datos.
	Febrero	Recolección de datos.
	Marzo	Recolección de datos.
	Abril	Organización, tabulación, análisis de datos.
	Mayo	Presentación final del proyecto.

11. RESULTADOS

De un total de 198 pacientes ingresados al HUHMP entre 1 de Marzo de 2011 y el 31 de Marzo de 2012; tres egresaron con diagnostico diferente a Dengue (Sepsis) por lo tanto fueron excluidos.

De los 195 pacientes restantes, a 64 no se les realizo medición sérica de Dímero D, y por ello no fueron tomados para el estudio. La muestra final para el estudio quedó constituida por 132 pacientes.

Figura 18. Gráfica de Genero.



Las características demográficas de los 132 pacientes del estudio son: menores entre 1 y 14 años (Media $7,00 \pm 3,62$ años), 68 de ellos de género femenino (52%) y 64 pacientes de género masculino (48%) , 81 de los pacientes procedentes de Neiva y los restantes de otros municipios de Huila 12 de Tello y 10 de Campoalegre.

Figura 19. Histograma de edad.

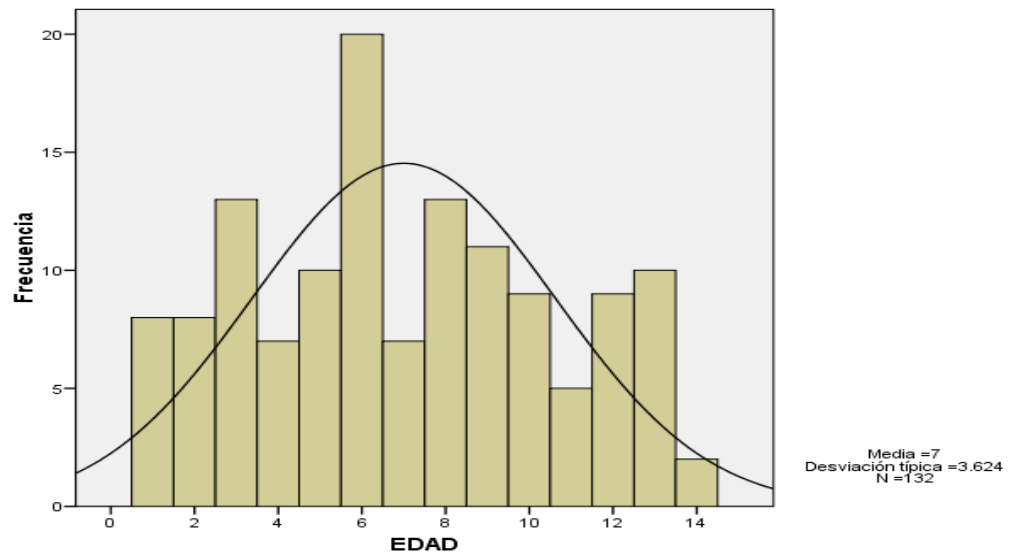
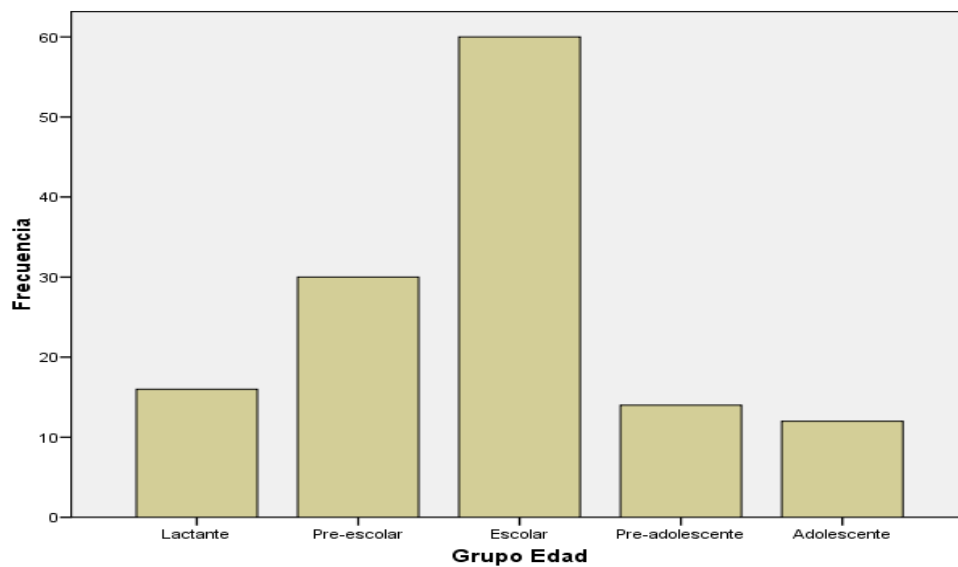


Figura 20. Distribución por Grupo de Edad.



Las figuras 1 y 2 muestran la distribución por edad y por grupos de edad. Se destaca el grupo de escolares (entre 6 a 10 años) como el más afectado

De los pacientes, se reportó sangrado en 25 de ellos (19%), una quinta parte sangro; siendo en orden de frecuencia los sitios de localización de sangrado los siguientes:

1. Sangrado Nasal (epistaxis)
2. Sangrado en encías (Gingivorragia)
3. Sangrado gastrointestinal
4. Otros.

14 pacientes ingresaron con un diagnóstico inicial de Dengue Severo y 118 de Dengue con Signos de Alarma, de estos 118, 12 pasaron a un diagnóstico de egreso de Dengue Severo, de modo que al final 26 pacientes contaron con este diagnóstico y 106 continuaron con Dengue con Signos de Alarma.

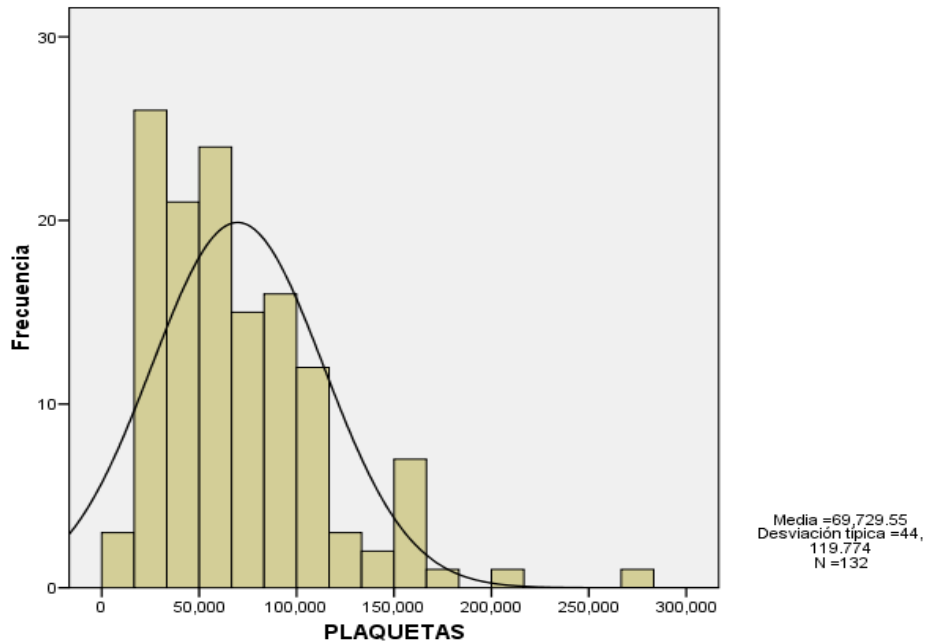
Tabla 1. Descriptivos para indicadores Para clínicos.

INDICADOR	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
PLAQUETAS	132	12000	277000	69729,55	44119,77
TP	132	11,3	30	14,96	2,85
TPT	130	13,2	96,2	40,05	10,89
DIMERO D	132	294	8643,75	2195,79	1303,93
FIBRINOGENO	130	71	533	267,37	72,94

En la tabla 1 se puede observar el comportamiento de los diferentes indicadores de laboratorio para los pacientes evaluados. Se resalta el promedio de plaquetas incluyendo un valor mínimo registrado de 12.000

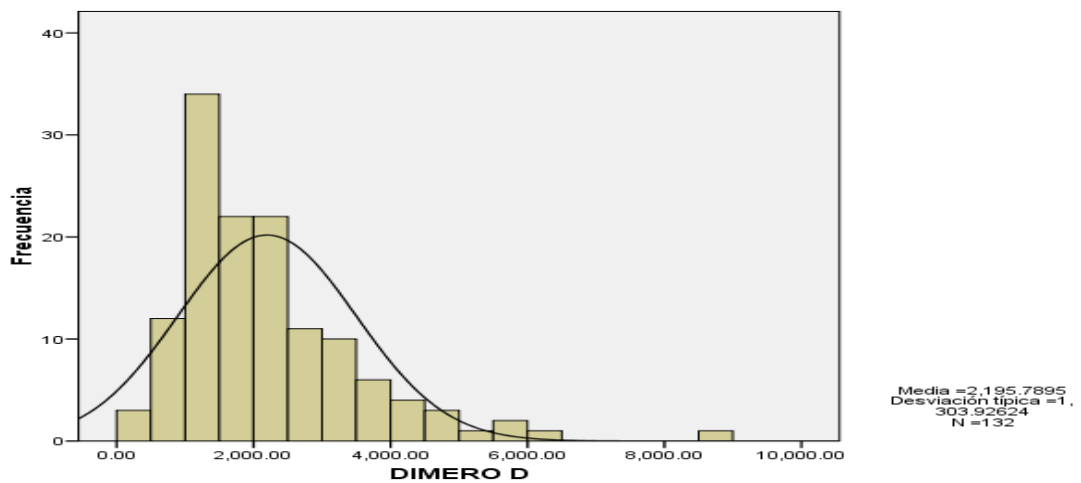
El mismo comportamiento se observó en el Dímero D, con una media relativamente alta pero con un valor máximo registrado de hasta 8.644 ng/ml.

Figura 21. Histograma de Plaquetas.



En la figura 21 se puede apreciar la representación del número de Plaquetas, donde la superficie de cada barra es proporcional a la frecuencia de los valores representados. Se evidencia una media de 69.730 mm³ con una desviación típica de 44.120.

Figura 22. Histograma de Dimero D.



D

En la figura 22 se puede apreciar la representación de valor del Dímero D, evidenciando una media de 2.196, con una desviación típica de 1.304, en los 132 pacientes que entraron al estudio, con valores concentrados especialmente en la parte inferior y casos menos frecuentes en la parte derecha correspondiente a valores elevados de la gráfica.

Tabla 2. Matriz de Correlaciones.

	PLAQUETAS	DIMERO D
PLAQUETAS		
DIMERO D	-0,04	
FIBRINOGENO	0,22	0,10

*Correlaciones significativas a 0,05

La tabla 2 permite identificar que no se presentó ninguna correlación significativa entre los diferentes indicadores.

A la hora de las comparaciones, se utilizaron pruebas no paramétricas en razón a que las distribuciones de las diferentes variables se alejaron de la distribución normal.

Tabla 3. Comparación de Indicadores por Grupos de Edad.

	Grupo Edad	N	Rango promedio	Media	Desviación típica	Kruskal-Wallis	Sig. asintót.
PLAQUETAS	Lactante	16	80,91	81125,00	38784,66	5,07	0,28
	Pre-escolar	30	72,08	83033,33	61277,48		
	Escolar	60	63,78	64966,67	36905,73		
	Pre-adolescente	14	61,86	62035,71	36968,00		

	Adolescente	12	52,33	54066,67	34237,92		
TP	Lactante	16	53,44	14,15	2,46	3,64	0,46
	Pre-escolar	30	68,85	15,29	3,59		
	Escolar	60	65,48	14,75	2,37		
	Pre-adolescente	14	68,93	14,97	2,35		
	Adolescente	12	80,29	16,28	3,78		
TPT	Lactante	16	77,69	41,75	7,65	3,51	0,48
	Pre-escolar	30	64,53	40,00	12,20		
	Escolar	58	60,47	38,86	11,42		
	Pre-adolescente	14	74,39	42,11	9,34		
	Adolescente	12	65,58	41,31	11,04		
DIMERO D	Lactante	16	58,69	1981,14	1281,17	1,49	0,83
	Pre-escolar	30	69,78	2215,01	1136,19		
	Escolar	60	66,53	2220,30	1394,74		
	Pre-adolescente	14	62,11	2025,58	1177,45		
	Adolescente	12	73,67	2509,96	1522,60		
FIBRINOGENO	Lactante	16	49,19	236,31	50,43	12,30	0,02
	Pre-escolar	30	54,02	244,17	72,30		
	Escolar	59	71,92	280,03	70,13		
	Pre-adolescente	14	86,79	311,71	87,05		
	Adolescente	11	59,00	251,45	64,43		

La tabla 3 muestra la comparación de cada uno de los indicadores para los 5 grupos de edad establecidos. En todos los indicadores se encontró una igualdad estadística entre los grupos, excepto en el Fibrinógeno con un valor Chi cuadrado para la Prueba de Kruskal-Wallis de 12,3 correspondiendo con una significancia de 0,02. Los valores fueron más altos en el grupo de los pre-adolescentes y más bajos en los lactantes. No se puede evidenciar una tendencia progresiva ascendente o descendente de la variable.

Tabla 4. Comparación de Indicadores por Presencia de Sangrado.

	SANGRADO	N	Rango promedio	Media	Desviación típ.	U de Mann-Whitney	Sig. asintót.
PLAQUETAS	Si	25	67,10	75120,00	53652,68	1322,50	0,93
	No	107	66,36	68470,09	41778,37		
TP	Si	25	66,02	15,13	3,16	1325,50	0,94
	No	107	66,61	14,92	2,78		
TPT	Si	24	57,56	37,80	8,98	1081,50	0,25
	No	106	67,30	40,56	11,25		
DIMERO D	Si	25	63,80	2093,96	1239,35	1270,00	0,70
	No	107	67,13	2219,58	1323,04		
FIBRINOGENO	Si	25	64,48	263,92	86,12	1287,00	0,88
	No	105	65,74	268,19	69,89		

Al comparar la medición de los paraclínicos representativos de la coagulación entre los pacientes que presentaron sangrado y los que no, se encontró una equivalencia estadística para todos. No obstante, se ha incluido la media y su correspondiente desviación estándar en la tabla con el fin de observar las tendencias en cada uno. Así, se puede identificar que el recuento de plaquetas fue mayor en los pacientes que presentaron sangrado.

Tabla 5. Comparación de Indicadores por Diagnóstico Final.

	DIAGNOSTICO FINAL	N	Rango promedio	Media	Desviación típ.	U de Mann-Whitney	Sig. asintót.
PLAQUETAS	Dengue Severo	26	37,52	42673,08	33796,73	624,50	0,00*
	Dengue con Signos de Alarma	106	73,61	76366,04	43941,65		
TP	Dengue Severo	26	87,77	16,75	3,93	825,00	0,002*
	Dengue con Signos de Alarma	106	61,28	14,52	2,33		
TPT	Dengue Severo	25	72,00	42,62	15,68	1150,00	0,34
	Dengue con Signos de Alarma	105	63,95	39,44	9,40		
DIMERO D	Dengue Severo	26	73,69	2396,72	1228,81	1191,00	0,28
	Dengue con Signos de Alarma	106	64,74	2146,51	1322,60		
FIBRINOGENO	Dengue Severo	26	54,98	246,15	67,19	1078,50	0,11
	Dengue con Signos de Alarma	104	68,13	272,67	73,66		

*Diferencia significativa

La tabla 5 permite identificar algunas diferencias muy significativas como el recuento de plaquetas en los pacientes que recibieron diagnóstico final de Dengue Severo fue significativamente menor que en aquellos que recibieron diagnóstico de dengue con signos de alarma.

En los demás indicadores los grupos fueron equivalentes estadísticamente incluyendo Dímero D.

12. DISCUSION

Se realizó un estudio descriptivo prospectivo en el Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de la ciudad de Neiva con el fin de buscar una correlación entre algunos elementos de la coagulación entre ellos los niveles de Dímero D, el recuento de plaquetas, fibrinógeno, el tiempo de protrombina y tiempo de trombolastina con la presencia de sangrado y gravedad de la infección por dengue.

Al terminar el estudio de un total de 132 pacientes clínicamente diagnosticados con dengue, se pudo evidenciar que la infección por virus dengue continúa afectando en general, a toda nuestra población infantil, siendo los mayores de 6 años (45%) los que con frecuencia se ven más afectados; lo cual se corresponde con la literatura (48), en la que se destaca el grupo de escolares (entre 6 a 10 años) como los pacientes pediátricos más afectados.

De los 132 pacientes estudiados egresaron con diagnóstico final de Dengue Severo 26, es decir el 20% y 106 (80%) con Dengue con Signos de Alarma; el porcentaje de pacientes severos teniendo en cuenta que el mencionado grupo tiene un mayor riesgo de mortalidad además que corresponde al nivel de complejidad de atención del Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de Neiva, y tiene cierta relación con lo reportado en la literatura mundial como es el caso de Indonesia, con una incidencia del 16.9% de Dengue severo.

En cuanto al comportamiento del Dímero D; nuestro estudio no mostró niveles significativamente más altos de Dímero D en pacientes con dengue severo en comparación con los pacientes con Dengue con signos de alarma, tampoco se encontró una correlación positiva entre sangrado en dengue y Dímero D.

Los valores de plaquetas no tuvieron ninguna correspondencia con el sangrado, no hubo evidencia ni alguna demostración estadísticamente significativa en donde el valor de plaquetas estuviera relacionado con sangrado, más aún sangraron pacientes que tenían recuento de plaquetas por encima de la media. Es decir que: "Las Plaquetas no están relacionadas con el sangrado en el paciente con dengue"; Los sangrados son independientes del recuento plaquetario.

Por otra parte el número de plaquetas si evidencio una correlación con la severidad, encontrando que los pacientes que evolucionaron a dengue severo exhibieron un valor más bajo de plaquetas. Con una significancia <0.05 , lo cual es

estadísticamente significativo lo cual concuerda con la literatura; en un estudio Colombiano realizado por el Dr. Villar se describió que la trombocitopenia profunda está fuertemente relacionada con la severidad del dengue (47). Por lo tanto sigue siendo prioritario la toma de paraclínicos diarios para el seguimiento de la trombocitopenia del paciente con dengue, estableciendo según este estudio que todo paciente con recuento de trombocitos por debajo de 46.000 se encuentra en riesgo de cursar con un dengue grave.

El fibrinógeno no se vio involucrado en ninguna de las correlaciones de nuestro estudio, observando que en ninguno de los grupos (pacientes con dengue con signos de Alarma vs pacientes severos y pacientes con sangrado vs pacientes sin sangrado) se demostró una alteración de los niveles del mismo.

Una de las debilidades del estudio es el hecho de que el trabajo fue realizado analizando variables de la coagulación asociadas al dengue en pacientes hospitalizados, sin considerar aquellos manejados ambulatoriamente. Esto implica que sólo se conoce una parte del espectro de la enfermedad. Además que por las características de la enfermedad los grupos a comparar (dengue severo vs dengue con signos de alarma y sangrado vs no sangrado) fueron muy dispares en número.

Se propone la realización de más estudios para validar los hallazgos mencionados y, de esta forma, obtener herramientas que ayuden a identificar a los pacientes con mayor riesgo de severidad y brindarles intervenciones oportunas, en aras de disminuir las complicaciones y la mortalidad por dengue en la población pediátrica.

13. CONCLUSIONES

El Dímero D no es un factor pronóstico de sangrado ni un predictor de severidad en la infección por virus Dengue.

El nivel de plaquetas no está relacionado con la presencia de sangrado en la infección por Dengue, no obstante el número de plaquetas es un predictor de severidad en dengue.

El sangrado en la infección por el virus Dengue no es secundario a una coagulación intravascular diseminada, no se evidencio consumo de fibrinógeno en los pacientes que sangraron en el presente estudio, a pesar de tener Dímero D alto.

BIBLIOGRAFIA

1. BRITGET A ; WIÑÑS, Jeremy J. y FARRAR, Michael Levin. Coagulation Abnormalities in Dengue Hemorrhagic Fever. *Clinical Infectious Diseases*. 2002;35.
2. VEGA CASTRO, Lorena del Pilar, Jefe de Laboratorio Clínico. *Manual de Normas Técnicas - Primera Parte*. 2011.
3. PÁRAMO J.A.; PANIZO, E., C., PEGENAUTE, R. Lecumberri. Coagulación 2009: una visión moderna de la hemostasia. *REV MED UNIV NAVARRA/VOL 53, Nº 1, 2009, 19-23*.
4. FURIE, B.; FURIE BC. Molecular basis of blood coagulation. En: Churchill Livingstone ed. *Hematology: Basic Principles and Practice*. Hoffman R. (3rdEd) 2000; 1783-1803.
5. Mateo J, Santamaria A, Borrell M, Souto JC, Fontcuberta J. "Fisiología y exploración de la hemostasia". En: Sans Sabrafen J, Besses Raebel C, Vives Corrons JL, eds. *Hematología Clínica*. Madrid: Harcourt, 2001; 597-618.
6. Handin RI. "Disorders of coagulation and thrombosis". En: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, eds. *Harrison Principle's of Internal Medicine*. Nueva York: MacGraw Hill, 2001; 751-757.
7. FURIE, B, y FURIE BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med* 2008;359:938-949.
8. _____ Molecular basis of blood coagulation. En: *Hematology. Basic principles and practice*. 5th Edition. Hoffman Retal (eds). Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia, USA 2009; pp1819-1836.
9. MACKMAN N, ;TILLEY, R, y KEY NS. Role of the extrinsic pathway of blood coagulation in hemostasis and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:1687-93.

10. MONROE, DM, ; KEY, NS. The tissue factor-factor VIIa complex: procoagulant activity, regulation and multitasking. *J Thromb Haemost*. 2007;5:1097-105.
11. Monagle P, Chan A, Massicotte P, Chalmers E, Michelson AD. Antithrombotic therapy in children: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004; 126: 645S-687S.
12. Ulrike N, Kosch A. Factor VIII, d-Dimer, and Thromboembolism in Children. *N Engl J Med* 2004;351:1051-3.
13. Elst K, Jochmans K, De Pauw A, De Waele M. Plasma D-dimer concentrations in different clinical conditions. *Acta Clin Belg* 2002;57:325-30.
14. Activation of endothelial cells, coagulation and fibrinolysis in children with Dengue virus infection. *Thromb Haemost* 2007; 97: 627–634.
15. Wills BA, Oragui EE, Stephens AC, Daramola OA, Dung NM, Loan HT, Chau NV, Chambers M, Stepniewska K, Farrar JJ, Levin M. Coagulation abnormalities in dengue hemorrhagic Fever: serial investigations in 167 Vietnamese children with Dengue shock syndrome. *Clin Infect Dis* 2002; 35(3):277-285.
16. Diaz-Quijano FA, Villar-Centeno LA, Martinez-Vega RA. Indicadores tempranos de infección por dengue en niños. *An Pediatr (Barc)* 2006; 64:523-529.
17. Chua MN, Molanida R, de Guzman M, Laberiza F. Prothrombin time and partial thromboplastin time as a predictor of bleeding in patients with dengue hemorrhagic fever. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1993; 24 (Suppl 1):141-143.
18. Lum LC, Goh AY, Chan PW, El-Amin AL, Lam SK. Risk factors for hemorrhage in severe dengue infections. *J Pediatr* 2002 May; 140(5):629-631.

19. Shivbalan S, Anandnathan K, Balasubramanian S, Datta M, Amalraj E. Predictors of spontaneous bleeding in Dengue. *Indian J Pediatr* 2004;71(1):33-36.
20. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Definiciones de Casos. Dengue. *Boletín Epidemiológico* 2000; 21:14-15.
21. Díaz-Quijano FA, Villar-Centeno LA, Martínez-Vega RA. Complicaciones asociadas a la trombocitopenia profunda en pacientes con Dengue. *Rev Méd Chile* 2006; 134:167-173.
22. Gomber S, Ramachandran VG, Kumar S, Agarwal KN, Gupta P, Gupta P, Dewan DK. Hematological observations as diagnostic markers in dengue hemorrhagic fever-a reappraisal. *Indian Pediatr* 2001; 38(5):477-481.
23. Krishnamurti C, Kalayanarooj S, Cutting MA, Peat RA, Rothwell SW, Reid TJ, Green S, Nisalak.
24. Lum LC, Goh AY, Chan PW, El-Amin AL, Lam SK. Risk factors for hemorrhage in severe dengue infections. *J Pediatr* 2002 May; 140(5):629-631.
25. Shivbalan S, Anandnathan K, Balasubramanian S, Datta M, Amalraj E. Predictors of spontaneous bleeding in Dengue. *Indian J Pediatr* 2004; 71(1):33-36.
26. A. Guzman, R.E. Istúriz. Update on the global spread of dengue. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 36S (2010) S40-S42.
27. Fried JR, Gibbons RV, Kalayanarooj S, Thomas SJ, Srikiatkachorn A, Yoon IK, et al. Serotype-specific differences in the risk of dengue hemorrhagic fever: an analysis of data collected in Bangkok, Thailand from 1994 to 2006. *PLoS Negl Trop Dis* 2010;4:e617.
28. Vasilakis N, Weaver SC. The history and evolution of human dengue emergence. *Adv Virus Res* 2008;72:1–76.

29. Gubler DJ. *Aedes aegypti* and *Aedes aegypti*-borne disease control in the 1990s: top down or bottom up. Charles Franklin Craig Lecture. *Am J Trop Med Hyg* 1989;40:571–8.
30. Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever: its history and resurgence as a global public health problem. In: Gubler DJ, Kuno G, editors. *Dengue and dengue hemorrhagic fever*. London: CAB International; 1997. p. 1.
31. Gubler DJ. Dengue/dengue haemorrhagic fever: history and current status. *Novartis Found Symp* 2006;277:3–16.
32. Kuno G. Research on dengue and dengue-like illness in East Asia and the Western Pacific during the first half of the 20th century. *Rev Med Virol* 2007;17:327–41.
33. Rudnick A, Marchette NJ, Garcia R. Possible jungle dengue – recent studies and hypotheses. *Jpn J Med Sci Biol* 1967;20:69–74.
34. Guzmán MG, Kouri G. Dengue and dengue hemorrhagic fever: research priorities. *Rev Panam Salud Publica* 2006;19:204–15.
35. Periago MR, Guzmán MG. Dengue and hemorrhagic dengue in the Americas [in Spanish]. *Rev Panam Salud Publica* 2007;21:187–91.
36. Tabachnick WJ. Challenges in predicting climate and environmental effects on vector-borne disease epistystems in a changing world. *J Exp Biol* 2010;213:946–54.
37. WHO. Report of the Scientific Working Group on Dengue. Geneva: World Health Organization; 2006 [DR/SWG/08].
38. San martin JL, Brathwaite O. The epidemiology of Dengue in the Americas over the last three decades: A worrisome reality. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 82(1), 2010, pp. 128-135.

39. P. Cameron Simmons, Ph.D., Jeremy J. Farrar, MD, Ph.D., Nguyen Van Vinh Chau, MD, Ph.D., y las voluntades de Bridget, MD, MS. *Dengue*. *N Engl J Med* 2012; 366:1423-1432.
40. Sosothikul D, Seksarn P, Pongsewalak S, Thisyakorn U, Lusher J. Activation of endothelial cells, coagulation and fibrinolysis in children with Dengue virus infection. *Thromb Haemost* 2007 Apr; 97 (4): 627–634.
41. Lorna Eyre, Fiona Gamlin. Haemostasis, blood platelets and coagulation. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, Volume 11, Issue 6, June 2010, Pages 244-246.
42. Setrkraising K, Bongsebandhu-phubhakdi Ch. D-dimer as an indicator of dengue severity. *Asian Biomedicine* Vol. 1 No. 1 June 2007.
43. Thisyakorn U, Thisyakorn C. Dengue hemorrhagic fever. In: Dupont HL, Steffen R, editors. *Textbook of travel medicine and health*. 2nd ed. Hamilton: B.C. Decker; 2001: 312-4.
44. Mittrakul C, Thisyakorn U. Hemostatic studies in dengue hemorrhagic fever. In: Suvatte V, Tuchinda M, editors. *Proceedings of the 1st International Congress of Tropical Pediatrics*; 1989 Nov 8-12; Bangkok, Thailand. Bangkok: Ruen Kaew press; 1989: 215-7.
45. Ohnishi K, Kato Y. Circulating D-dimer and throm bomodulin levels in acute febrile phase of measles. *J Infect*. 2002; 45:180-3.
46. Levi M, de Jong E, van der Poll T, ten Cate H. Novel approach to the management of disseminated intravascular coagulation. *Crit Care Med*. 2000; 28 (9 Suppl):S20-4.

