

CITOQUINAS Y RECEPTORES SOLUBLES COMO MARCADORES DE
SEVERIDAD EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR VIRUS
DENGUE: IMPORTANCIA Y POSIBLE USO PARA INTERVENCIÓN CLÍNICA

GINA MARIA RIVERA TOVAR

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

CITOQUINAS Y RECEPTORES SOLUBLES COMO MARCADORES DE
SEVERIDAD EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR VIRUS
DENGUE: IMPORTANCIA Y POSIBLE USO PARA INTERVENCIÓN CLÍNICA

GINA MARIA RIVERA TOVAR

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

Asesora
DORIS MARTHA SALGADO DE PANQUEBA,
Pediatra Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo,
Docente del Departamento de Pediatría de la Universidad Surcolombiana
Enfermedades Infecciosas *London School of Hygiene & Tropical Medicine, UK.*

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

Nota de aceptación:

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Neiva, Diciembre del 2012

DEDICATORIA

Con especial cariño a los niños

“Para que a través de sus fantasías, continúen siendo nuestros animadores, y así, fortalecido nuestro espíritu nos transforme en cómplices de sus pícardías”

A mi familia por el apoyo incondicional.

Gina María

AGRADECIMIENTOS

La autora expresa sus agradecimientos:

A Dios Todopoderoso por haberme guiado en la búsqueda incansable del conocimiento.

A la Universidad Surcolombiana, docentes y compañeros de residencia de Pediatría, por apoyarme permanentemente.

A los profesores de la especialización, por quienes tuve su apoyo incondicional, y estuvieron allí como unos padres, para darme la mano y ayudarme a levantar cada vez que tropezaba.

A todos y cada uno mil gracias...!!!

CONTENIDO

	Pág.
1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	17
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
3. JUSTIFICACIÓN	19
4. OBJETIVOS	21
4.1 OBJETIVO GENERAL	21
4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	21
5. MARCO TEÓRICO	22
5.1 GENERALIDADES	22
5.2 EL VIRUS DENGUE	22
5.3 PATOGÉNESIS	23
5.4 OTROS MECANISMOS	24
5.4.1 Citoquinas	24
5.4.2 Clínica	29
5.5 CLASIFICACIÓN	30
5.6 DIAGNÓSTICO	31
5.6.1 Diagnóstico diferencial	31
5.6.2 Inmunomodulación	31
5.6.3 Corticoesteroides	32
5.6.4 Inmunoglobulina intravenosa	32
5.7 ANTIBIÓTICOS	33
5.8 PENTOXIFILINA	33
5.9 VITAMINA D	33
5.10 ESTATINAS	34

		Pág.
5.11	COLORQUINA	35
5.12	MANEJO ANTIVIRAL	36
5.12.1	Balafiravir	36
6.	METODOLOGÍA	37
6.1	TIPO DE ESTUDIO	37
6.2	POBLACIÓN Y MUESTRA	37
6.2.1	Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de Neiva	37
6.2.2	ESE Carmen Emilia Ospina	38
6.2.3	Criterios de inclusión para dengue	39
6.2.4	Criterios de inclusión para dengue con signos de alarma	39
6.2.5	Criterio de Inclusión dengue grave	39
6.2.6	Criterios de exclusión	40
6.3	PRUEBA PILOTO	40
6.4	INTERVENCIONES	40
6.5	PROCESAMIENTO DE LOS DATOS	42
6.6	PLAN DE ANÁLISIS	42
6.7	VARIABLES	43
6.7.1	Definición de variables clínicas	43
7.	ASPECTOS ÉTICOS	46
8.	RESULTADOS	47
9.	DISCUSIÓN	57
	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	62
	ANEXOS	71

LISTA DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1	Características demográficas y sintomatología	48
Tabla 2	Estudios de laboratorio en los pacientes de los 3 grupos clasificados de acuerdo a su diagnóstico	49
Tabla 3	Estudios inmunológicos completos	51
Tabla 4	Diagnóstico de laboratorio	56

LISTA DE GRAFICAS

		Pág.
Grafica 1	Clasificación revisada del dengue	31
Grafica 2	Causas de dengue grave	50

LISTA DE ANEXOS

	Pág.	
Anexo A	Consentimiento informado	72
Anexo B	Criterios de inclusión y exclusión	74
Anexo C	Ingreso al estudio paciente hospitalario día 0	75
Anexo D	Formulario control hospitalario día 1	80
Anexo E.	Formulario control hospitalario día 2	83
Anexo F.	Resumen de para clínicos hospitalarios	86
Anexo G.	Formato cierre de caso	89
Anexo H.	Visita control día 14	90
Anexo I.	Ingreso al estudio paciente ambulatorio día 0	91
Anexo J.	Formulario ambulatorio día 1	94
Anexo K.	Formulario Ambulatorio día 2	97
Anexo L.	Resumen de para clínicos ambulatorios	100

RESUMEN

Introducción: En la infección viral por el virus dengue (VD) se han realizado estudios que buscan una relación entre severidad y diversos factores, entre ellos carga viral, elevación del NS1 y altos niveles circulantes de algunas citoquinas como TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, VEGF, estudios posteriores dan importancia a los receptores solubles de algunas de ellas como sTNFR2, sIL-2R, VEGFR2. Colombia hace parte de los países que con preocupación como agravante ha mostrado una expansión especialmente en las presentaciones severas, hiper endemicidad viral (4 serotipos circulantes) e incremento de la mortalidad. Entre los departamentos más afectados se encuentra el Huila

Objetivo principal: Determinar la utilidad de la medición de niveles circulantes de TNF α , sTNFR2, sIL2R, VEGF, VEGFR2, IL10, ST2, IL6, IL1 β , IL 8, IL12 como marcadores de severidad en pacientes con infección por VD

Metodología: Estudio de cohorte prospectivo en el servicio de Pediatría del Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo y la ESE Carmen Emilia Ospina (IPC) de Neiva durante enero 2011 y agosto 2012. Se incluyeron 180 pacientes pediátricos, 7 se retiraron durante el seguimiento, DG (dengue grave) 60, DCSA (dengue con signos de alarma) 55 y DSSA (dengue sin signos de alarma) 58. El diagnóstico se hizo por clínica, NS1, IgM, IgG y PCR. Se realizó seguimiento clínico y se tomaron pruebas inmunológicas en la fase aguda (día 0) y de convalecencia (día 14). Por citometría de flujo se midió IL-10, IL-6 y TNF α y por ELISA IL-2R, ST2, sTNF α RII, VEGF, VEGF RII.

Resultados: sTNFRII mostró diferencia estadísticamente significativa con las determinaciones realizadas entre los diferentes grupos, igual el VEGF tanto en la fase aguda como en la convaleciente, específicamente entre DG y DSSA. El VEGFRII, evidencia diferencias entre la fase aguda y convaleciente en todos los grupos, sin embargo los datos más interesantes se hacen significativos entre DG y DSSA. ST2 tuvo una clara diferencia entre DG con cualquiera otro de los grupos, convirtiéndose en un marcador específico para dengue grave. La IL6 muestra en la fase aguda incremento en sus valores en las formas complicadas de dengue con diferencia estadísticamente significativa respecto a DSSA. En cuanto a IL8 se observan valores de medianas muy parecidos en las formas de DG y DCSA que son mayores de forma significativa respecto a DSSA. Mediante regresión logística se pudo demostrar asociación positiva con gravedad en ST2 (p 0,008), VEGFRII (p 0,003) y de IL8 (p 0,006).

Discusión: La lesión endotelial es la piedra angular en dengue grave, se ha planteado a VEGF como una citoquina capaz de aumentar la permeabilidad vascular a través de sus receptores expresados en células del endotelio, dando como resultado cambios en la morfología micro vascular y fuga plasmática. Se espera que altas concentraciones de VEGF produzcan regulación negativa en la expresión de su receptor (VEGFR2). El presente estudio muestra una diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de VEGF al comparar DG versus DSSA (50.9 vs 4.5 pg/ml) $p=0.000$ en la fase aguda, así como una disminución estadísticamente significativa de los niveles del VEGFR2 en DG VS DSSA (Me 8542 vs 17469pg/ml) $p=0.000$. Mediante regresión logística se mostró asociación positiva entre el incremento de su concentración y DG ($p<000$).

Una inadecuada regulación a pesar de altos de niveles de IL-10 se ha correlacionado con la severidad del cuadro clínico, como se observó en este estudio en el que los valores más altos de esta citoquina se encontraron DG, planteando, que concentraciones aumentadas IL 10 podría conducir al freno de la actividad T y mayor gravedad. Llama la atención en nuestro estudio el significativo aumento de los niveles de ésta citoquina en aquellos pacientes que cursaron con hepatitis dengue, teniendo en cuenta que el hígado fue el principal órgano afectado en pacientes con dengue grave se postula como probable marcador predictor para compromiso hepático.

Encontramos sobreproducción de IL 6 e IL 10 especialmente en los pacientes que fallecieron y alerta sobre el posible papel patogénico de estas en las formas graves de enfermedad. En nuestro estudio se encontró un incremento de ST2 al doble en pacientes con DCSA (437) y de más de 10 veces en niños con DG (1916) al compararlo con DSSA (182) al realizar el análisis multivariado kruskal Wallis $p 0.000$. La regresión logística mostro asociación positiva entre el incremento de los niveles de ST2 y DG ($p=000$). Lo que sugiere la posibilidad de utilizar el ST2 clínicamente como un marcador útil de severidad. IL-8 se ha reportado aumentado en el DG (71,77), lo cual también fue observado en este análisis.

Con los hallazgos encontrados en nuestro estudio se confirma la importancia de la respuesta inmunológica en la fisiopatología de la infección por virus dengue asociado a formas graves, de ésta manera surge la necesidad de continuar investigaciones en el campo terapéutico que sean capaces de intervenir la respuesta inflamatoria y actuar como inmunomoduladores, dentro de éstos posibles manejos se encuentra postulada la pentoxifilina, vitamina D, estatinas, esteroides y terapia biológica (Becacizumab), algunas estudiadas en dengue y otras en patologías que comparten una respuesta inmunológica similar y que

amerita continuar la investigación como una opción terapéutica temprana para éstos pacientes.

Palabras claves. Dengue, infección viral.

ABSTRACT

Introduction: In the viral infection by the virus fastidiousness (VD) there have been realized studies that look for a relation between severity and diverse factors, between them viral load, elevation of the NS1 and high places circulating levels of some citoquinas as TNF to, IL-1, IL-6, IL-8, VEGF, later studies give importance to the soluble recipients of some of them as sTNFR2, sIL-2R, VEGFR2. Colombia does part of the countries that with worry like aggravating circumstance has showed an expansion specially in the severe presentations, hiper endemicidad viral (4 serotipos circulating) and increase of the mortality. Between the most affected departments one finds the Huila.

Principal aim: VEGF Determines the usefulness of the measurement of TNF's circulating levels to, sTNFR2, sIL2R, VEGFR2, IL10, ST2. IL6, IL1 β , IL 8, IL12 as marking of severity in patients with infection for VD.

Methodology: market Study of cohort in the service of Pediatrics of the University Hospital Hernando Moncaleano Perdomo and THIS Carmen Emilia Ospina Neiva's (CONSUMER PRICES INDEX) during January, 2011 and August, 2012. 180 paediatric patients were included, 7 withdrew from themselves during the follow-up, DG (serious fastidiousness) 60, DCSA (fastidiousness with signs of alarm) 55 and DSSA (fastidiousness without signs of alarm) 58. The diagnosis did to itself for clinic, NS1, IgM, IgG and PCR. Clinical follow-up was realized and immunological tests took in the sharp phase (the 0th) and of convalescence (the 14th). For citometría of flow did it measure up IL-10, IL-6 and TNF? And for ELISA IL-2R, ST2, sTNFa RII, VEGF, VEGF RII.

Results: sTNFRII showed statistically significant difference with the determinations realized between the different groups, equally the VEGF both in the sharp phase and in the convalescent one, specifically between DG and DSSA. The VEGFRII, evidence you differ between the sharp and convalescent phase in all the groups, nevertheless the most interesting information become significant between DG and DSSA. ST2 had a clear difference between DG with anyone different of the groups, turning into a specific scoreboard for serious fastidiousness. The IL6 shows in the sharp phase I increase in his values in the complicated forms of fastidiousness with statistically significant difference with regard to DSSA. As for IL8 are observed values of medians very seemed in the forms of DG and DCSA that are major of significant form with regard to DSSA. By means of logistic regression it was possible to demonstrate positive association with gravity in ST2 (p 0,008), VEGFRII (p 0,003) and of IL8 (p 0,006).

Discussion: The injury endothelial is the angular stone in serious fastidiousness, one has raised VEGF as a citoquina capable of increasing the vascular permeability across his recipients expressed in cells of the endotelio, giving like proved changes in the morphology vascular mike and plasmatic escape. It hopes that VEGF's high concentrations produce negative regulation in the expression of his recipient (VEGFR2). The present study shows a statistically significant difference between VEGF's levels on having compared DG versus DSSA (50.9 vs 4.5 pg/ml) $p=0.000$ in the sharp phase, as well as a statistically significant decrease of the levels of the VEGFR2 in DG VS DSSA (Me 8542 vs 17469pg/ml) $p=0.000$. By means of logistic regression positive association appeared between the increase of his concentration and DG ($p <0.000$).

An inadequate regulation in spite of level high places of IL-10 has been correlated by the severity of the clinical picture, as it was observed in this study in which the highest values of this citoquina DG was, raising, that increased concentrations IL 10 it might drive to the brake of the activity T and major gravity. It is called the significant increase of the levels the attention in our study of this one citoquina in those patients who dealt with hepatitis fastidiousness, bearing in mind that the liver was the principal organ affected in patients with serious fastidiousness it is postulated as probable scoreboard predictor for hepatic commitment.

We find IL's overproduction 6 and IL 10 specially in the patients who died and it is alert on the possible paper patogénico of these in the serious forms of disease. In our study one found an increase of ST2 to the double in patients with DCSA (437) and of more than 10 times in children with DG (1916) on having compared it with DSSA (182) when Wallis to realize the multivaried analysis kruskal $p 0.000$. The logistic regression mostro positive association between the increase of the levels of ST2 and DG ($p=0.000$). What suggests the possibility of using the ST2 clinical as a useful scoreboard of severity. IL-8 there has been brought increased in the DG (71,77), which also was observed in this analysis.

With the findings found in our study confirms to itself the importance of the immunological response in the fisiopatología of the infection for virus fastidiousness associated with serious forms, from this one way arises the need to continue investigations in the therapeutic field that they are capable of controlling the inflammatory response and of acting like inmunomoduladores, inside these possible managings there is postulated the pentoxifilina, vitamin D, estatinas, steroids and biological therapy (Becacizumab), some studied in fastidiousness and others in pathologies that share an immunological similar response and that he deserves to continue the investigation as a therapeutic early option for patient these.

Keywords. Fastidiousness, viral infection.

1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

En el campo de la infección viral por el virus dengue (VD) se han llevado a cabo diversos estudios que buscan una relación entre severidad y diversos factores, entre ellos carga viral, elevación del NS1 y altos niveles circulantes de algunas citoquinas proinflamatorias

Estudios iniciales en la fisiopatología del dengue ya mostraban la importancia en la elevación de algunas citoquinas respecto a las formas severas de la enfermedad como TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, VEGF, estudios posteriores dan importancia a los receptores solubles de algunas de ellas como sTNFR2, sIL-2R, VEGFR2.

A pesar del mejor entendimiento de aquellos factores inmunológicos implicados en la fisiopatología de la enfermedad, algunos aspectos no explicaban completamente los hallazgos, y es de ésta manera cuando empieza a cobrar gran importancia factores genéticos que explican el polimorfismo genético en la expresión de éstas citoquinas.

Investigaciones recientes que se han llevado a cabo para aumentar el conocimiento en aquellos factores que intervienen en el aumento de la fuga vascular han demostrado que en la infección por VD juega un papel importante la sobreproducción de citoquinas y mediadores solubles tales como TNF α , IL-8, MCP-1 (proteína quimiotáctica de monocitos), MMP (metaloproteinasas de la matriz) y se ha descrito la importancia del MIF (factor inhibidor de la migración de macrófagos) en pacientes que cursan con dengue grave.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El dengue es una enfermedad viral endémica en casi todos los países de la región con brotes cíclicos aproximadamente cada 3-5 años.

En Colombia ha habido un incremento de los casos en los últimos años, con una expansión de las formas graves.

En el año 2009 en la unidad de cuidados intensivos pediátricos del Hospital universitario de Neiva el dengue fue la segunda causa de hospitalización con letalidad creciente del 1%, que demanda una puesta en marcha de estudios que permitan aclarar el porqué de este comportamiento.

Durante el año 2010 se presentó la epidemia más grande del último siglo en Colombia con más de 156000 casos (1), sin embargo a pesar de toda predicción apareció un nuevo brote en el año 2012, (2) situación no esperada y que plantea la importancia en la carga de esta enfermedad cuya epidemiología cambió.

Teniendo en cuenta la importancia en nuestro país de la presentación de las formas severas y las implicaciones en la morbimortalidad, se están analizando todos aquellos estudios que establecen la importancia entre diferentes marcadores con éstas formas de presentación, dentro de éstos se encuentran los factores inmunológicos que han demostrado la elevación de algunas citoquinas como marcadores de severidad que podrían constituir el blanco en el manejo de éste tipo de pacientes en busca de lograr la modulación inmunológica.

A partir del año 2009 la OMS generó una nueva clasificación para ésta enfermedad que la divide en dos grandes categorías: dengue, que incluye dengue con signos de alarma (DCSA) o, sin signos de alarma (DSSA) y dengue grave (DG).

¿Cuál es la relación entre los niveles circulantes de diferentes citoquinas y los receptores solubles como marcadores de severidad en pacientes con infección por virus dengue?

3. JUSTIFICACIÓN

El Dengue es endémico en casi todos los países de la Región y durante los últimos 25 años, se han presentado brotes cíclicos cada 3 a 5 años; con la particularidad que cada año epidémico, ha sido mayor que el que le precedió. En el año 2002 Según datos de la Organización Mundial de la Salud en las Américas, se reportaron 609.000 casos de dengue.

En el periodo 2001- 2007, más de 30 países de las Américas han notificado un total de 4.332.731 casos de dengue (OPS, 2008) con 1.299 defunciones y una tasa de letalidad de 1,2%. Los cuatro serotipos del dengue circularon en la Región (DEN-1, 2, 3 y 4).

La presencia de enfermedad en Colombia desde el año 2003 ha tenido un incremento progresivo de casos que paso de 46.504 casos a 69.150 en 2009 y cuya mortalidad fue la más alta de la región andina con 47 casos.

En el año 2009 en la unidad de cuidados intensivos pediátricos del Hospital universitario de Neiva el dengue fue la segunda causa de hospitalización con letalidad creciente del 1%., que demanda una puesta en marcha de estudios que permitan aclarar el porqué de este comportamiento.

La situación para el 2010 no cambió y por el contrario se recrudeció con persistencia de brotes en Guatemala, Nicaragua, Honduras, Colombia y Brasil. En ése año se presentó la epidemia más grande del último siglo en Colombia con más de 156000 casos (1), sin embargo a pesar de toda predicción apareció un nuevo brote en al año 2012, (2) situación no esperada y que plantea la importancia en la carga de esta enfermedad cuya epidemiología cambió.

Colombia hace parte de los países que con preocupación como agravante ha mostrado una expansión especialmente en las presentaciones severas de la enfermedad, hiper endemicidad viral (4 serotipos circulantes) e incremento de la mortalidad. Entre los departamentos más afectados se encuentran Huila y Santander aportando el mayor número de pacientes fallecidos.

La patogénesis del dengue no está plenamente establecida aunque existen múltiples factores conocidos algunos en humanos y otros in vitro, relacionados con

severidad, es decir con la presentación de cuadros graves cada vez más frecuentes y mortales.

Mediante este estudio pretendemos determinar herramientas inmunológicas que orienten a la evolución de gravedad y plantear intervenciones clínicas y/o farmacológicas, evitando los desenlaces fatales y disminuyendo los costos económicos que la enfermedad conlleva

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la utilidad de la medición de niveles circulantes de TNF α , sTNFR2, sIL2R, VEGF, VEGFR2, IL10, ST2, IL6, IL1 β , IL 8, IL12 como marcadores de severidad en pacientes con infección por virus dengue.

4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Describir los niveles séricos de estas citoquinas durante el curso de la enfermedad en fase aguda y convaleciente.

Analizar el valor predictivo de éstos parámetros inmunológicos para detectar tempranamente dengue grave.

Proponer medidas terapéuticas de acuerdo a los resultados que puedan modificar el desenlace de la enfermedad.

Describir las características socio demográficas de la población evaluada

5. MARCO TEÓRICO

5.1 GENERALIDADES

El dengue es una enfermedad de amplia expansión a nivel mundial con el 40% de la población en riesgo de sufrirla.

Su prevalencia ha aumentado en más de 30 veces en los últimos 50 años, es considerada una enfermedad con potencial de constituirse en emergencia internacional en salud pública por su rápida diseminación epidémica a través de fronteras (Asamblea general de la OMS, 2005). Se estiman más de 50000 casos de mortalidad anual, predominantes en pacientes pediátricos y adultos jóvenes. (3,4,5)

En Colombia, el dengue es endemo-epidémico, en zonas por debajo de los 2.200m sobre el nivel del mar coincidiendo con la distribución del *Aedes aegypti*, el principal vector de la enfermedad. Actualmente se calcula una incidencia de 130 por 100.000 habitantes para el país. En el Departamento de Santander, las tasas de incidencia oscilan entre 113,4 y 268,7 casos y en el Huila entre 60 a 120 casos por 100.000 habitantes; con el agravante de tener la mayor mortalidad descrita en el año 2009 SIVIGILA (6).

5.2 EL VIRUS DENGUE

El Virus Dengue (VD) es miembro de la familia Flaviviridae, icosaédrico, con un genoma constituido por ARN de cadena sencilla de polaridad positiva y una envoltura que ha permitido clasificarlo en 4 serotipos: VDEN 1, VDEN 2, VDEN3 y VDEN 4; existen variantes genéticas dentro de un mismo serotipo relacionadas con la virulencia y la procedencia geográfica de la cepa.

El genoma del VD tiene una longitud de 10.5KB, con un sólo marco de lectura que es flanqueado en los extremos 5' y 3' por regiones no codificables (7,8), codifica 3 proteínas estructurales: la proteína E de envoltura, prM de membrana y la proteína C de cápside y a 7 proteínas no estructurales (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b y NS5) (9, 10).

5.3 PATOGÉNESIS

La patogénesis de la enfermedad no está claramente dilucidada, se le atribuyen algunos factores fisiopatogénicos que pueden provenir del virus o del huésped, bien de su sistema inmune o de algún órgano afectado. La carga viral es uno de los factores que se ha correlacionado con la severidad de la enfermedad (11).

Se ha hecho una búsqueda de la predicción de la aparición de parámetros clínicos encontrados en el dengue grave con la alteración de algunas citoquinas del huésped, estos incluyen trombocitopenia, asociada a altos niveles plasmáticos de IL-10 y de TNFaRII en una población de 54 niños de Tailandia(12); derrame pleural, al incremento de IL-6 reportada en 65% de 62 pacientes adultos afectados por fiebre dengue hemorrágica en una región occidental de la India (13), así mismo elevación de enzimas hepáticas, al aumento plasmático de IL-2 (12).

La infección primaria con un serotipo de DENV genera a largo plazo inmunidad protectora contra este serotipo homólogo, después de un tiempo es susceptible de hacer una segunda enfermedad (infección secundaria), (12) con riesgo de desarrollar enfermedad severa, ésta relación se ha explicado mediante la teoría de la Amplificación dependiente de anticuerpos (Enhancement) (13, 14, 15), que sugiere que la presencia de anticuerpos subneutralizantes contra un serotipo determinado (obtenidos en una infección previa), generan reacción cruzada contra los demás serotipos, incrementando el riesgo de presentar cuadros graves, esto ha podido ser demostrado *in vitro*, logrando evidenciar una mayor eficiencia en la unión del complejo virus-anticuerpo con los receptores Fcγ, presentes en células del sistema monocito-macrófago y en células dendríticas. La entrada del virus mediada por los receptores Fcγ, desencadena una serie de eventos intracelulares que incrementan, la capacidad del virus de producir infección. Por otro lado, la presencia de estos complejos conlleva una mayor producción de potentes citoquinas y quimoquinas vasoactivas.

La infección secundaria con virus dengue produce a una activación de linfocitos T de reactividad cruzada llevando a una rápida liberación de citoquinas y baja actividad de células T reguladoras. Adicionalmente, la interacción de Linfocitos T dengue específicos con células dendríticas infectadas con virus Dengue incrementa la producción de quimoquinas (13).

5.4 OTROS MECANISMOS

Existen otros mecanismos que intervienen, como la respuesta autoinmune contra los componentes de reacción cruzada viral, como la producción de anticuerpos específicos contra la proteína no estructural 1 del virus Dengue (NS1). Lo anterior puede causar lisis plaquetaria y apoptosis de células endoteliales mediada por óxido nítrico, generando trombocitopenia y lesión vascular. (16).

En la fase aguda de la enfermedad, hay una respuesta inflamatoria sistémica, disminución progresiva en la función de la célula T e incremento de la apoptosis, la búsqueda de citoquinas pro inflamatorias sistémicas y la identificación de órganos y tejidos que sustenten la replicación viral no está plenamente establecido.

5.4.1 Citoquinas. Las citoquinas están involucradas en casi todas las facetas de la inmunidad y la inflamación, incluyendo inmunidad innata, presentación de antígenos, diferenciación en la médula ósea, reclutamiento y activación celular y expresión de moléculas de adhesión.

El hecho de que las citoquinas sean producidas en respuesta a un insulto inmunológico determina inicialmente si se desarrolla una respuesta inmune y de manera subsiguiente si ésta respuesta es citotóxica, humoral, mediada por células o alérgica. (17).

Se considera que algunos individuos con infección secundaria por VD y alta carga viral son el detonante para desencadenar la liberación de una ola de citoquinas y otras moléculas inflamatorias a partir de una reacción cruzada a nivel de las células T. A partir de éste fenómeno nace la hipótesis de que ésta respuesta inflamatoria media el aumento de la permeabilidad vascular permitiendo el paso de moléculas desde el espacio intravascular que en algunos casos son la base de la presentación de dengue grave. (18)

Es probable que estos niveles elevados de citoquinas provengan de dos Fuentes: monocitos infectados por el virus dengue y linfocitos T específicos activados. (19)

Niveles elevados de diferentes citoquinas se han encontrado durante el curso de la infección por dengue, en particular concentraciones aumentadas de INF ϕ , TNF α e IL-10 en casos de dengue grave, otros estudios en éste mismo grupo de pacientes han revelado niveles reducidos de óxido nítrico (NO), asociado a niveles

elevados de IL-10 conociendo previamente la capacidad del NO para la regulación del sistema inmune. A su vez niveles elevados de IL-10 se han correlacionado con niveles reducidos de plaquetas y con una reducción en el funcionamiento de éstas. (18)

Cosimo Marcello Bruno, et cols., investigaron los niveles séricos de IL-10 en una cohorte de pacientes con dx de hepatitis C crónica y correlacionaron éstos niveles circulantes con las características bioquímicas e histopatológicas. La IL-10 como citoquina anti-inflamatoria puede limitar aún más la diferenciación y activación de células T, conduciendo a la supresión de la respuesta pro-inflamatoria en los tejidos. Por lo tanto el papel fisiológico de la IL-10 durante las enfermedades infecciosas es probablemente reducir el daño tisular resultante de los efectos desfavorables y excesivos de la inflamación, sin embargo una producción inadecuada de IL-10 durante la infección puede comprometer la eficacia del sistema inmune, lo que favorece una infección fulminante o persistente.

En éste estudio se encontró una relación estrecha entre los valores séricos de IL-10 y niveles de AST, teniendo en cuenta que ésta última es un indicador confiable de actividad necroinflamatoria, es razonable argumentar que los niveles elevados de IL-10 en pacientes con hepatitis C crónica refleja el grado de necroinflamación. En otros estudios se ha encontrado adicionalmente reducción en los niveles séricos de IL-10 en el momento en el que ocurre una disminución de aminotransferasas posterior al tratamiento con interferón y ribavirina. (20)

Este estudio sugiere como conclusión el posible uso de la IL-10 como un marcador adicional útil para evaluar necroinflamación y para supervisar la evolución de daño hepático.

Los niveles elevados de IL-6 se han asociado a nivel clínico con la presencia de ascitis.

Niveles elevados de IL-8 y MCP-1 se han relacionado con presencia de derrame pleural en casos de pacientes con dengue grave.

Dentro del estudio de estos mediadores inmunológicos, una de las citoquinas que más ha atraído la atención es el TNF α debido a su conocida actividad en la inducción de fuga plasmática. Éste puede ser producido por los monocitos o células endoteliales posterior a la infección por el virus dengue. (18)

Peifang Sun y colaboradores mostraron a partir del cultivo de monocitos que la producción de IL-10, TNF α e INF γ se correlacionan con la amplificación de la infección. Los niveles de estas citoquinas eran casi indetectables cuando la infección de los monocitos se realizaba en ausencia de anticuerpos. El TNF α es un pluripotente inmunomodulador vasoactivo lo cual explica en parte las manifestaciones clínicas en la infección por dengue como consecuencia de la sobreproducción de mediadores inflamatorios. (21)

La activación de la célula endotelial concomitante con las alteraciones de la coagulación que afectan al paciente especialmente en el periodo de la post efervescencia, se mostró en un estudio asociado a infección por DEN2, con elevación de niveles de TNF α y disminución de interferón del tipo I (22).

Algunas células como los monocitos, macrófagos y células dendríticas, son blanco de la infección e inducen la producción de varias citoquinas pro inflamatorias, es el caso del TNF α , IL1, IL6, y algunas quemoquinas. Los niveles de estas han sido medidos y se han encontrado altos especialmente en las formas severas pero hacen falta mayores estudios que expliquen de qué manera juegan su papel en la fuga vascular y lesión de órgano. (23)

El TNF α , TNF α RII, IFN δ e IL-8, son producidas en dos momentos diferentes de la enfermedad, en la fase pre efervescencia por células dendríticas y macrófagos, mientras que el TNF α en la fase post efervescencia por LT activados y probablemente células NK, las cuales tienen la posibilidad de sintetizar otras citoquinas como IFN δ e IL- 2 (24). Del mismo modo factores relacionados con la función endotelial como el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), y su receptor (VEGFR) también se han encontrado elevados por lo que su nivel sérico puede tener relación con alteraciones en el factor tisular, la trombosmodulina y por ende en la coagulación del paciente aumentando la permeabilidad vascular (24,25).

La expresión de la proteína sT2 puede ser inducida in vitro por estímulos proinflamatorios, como el lipopolisacárido (LPS), IL-1b, TNF α e IL-6 en modelos de inflamación de humanos y murinos. Niveles elevados de sT2 se han encontrado en pacientes con desórdenes inflamatorios asociados con respuestas mediadas por Th2 anormales, incluyendo enfermedades autoinmunes, asma y sepsis, adicionalmente se ha propuesto como biomarcador para falla cardíaca. Se han demostrado niveles elevados de ésta proteína en pacientes con infección por virus dengue, con mayor importancia en aquellos pacientes con infecciones secundarias. Los niveles de sT2 tienden a aumentar en la fase tardía febril y en la defervescencia, por lo tanto parece estar inversamente relacionada con la viremia. (26).

Recientemente se han realizado estudios con el objetivo de aumentar el conocimiento sobre aquellos factores que favorecen el aumento de la fuga vascular, teniendo en cuenta que la permeabilidad vascular de los capilares depende de la estructura de las células endoteliales y de la unión de éstas, la fuga puede deberse a daño en las células endoteliales o por influencia de mediadores vasoactivos. En la fisiopatología del dengue no se ha evidenciado daño endotelial, la fuga se ha relacionado con la sobreproducción de citoquinas y mediadores solubles tales como TNF α , IL-8, MCP-1 (proteína quimiotáctica de monocitos), MMP (metaloproteinasas de la matriz). Se ha descrito la importancia del MIF (factor inhibidor de la migración de macrófagos) en pacientes que cursan con dengue severo encontrando en ellos niveles elevados de ésta citoquina, con el conocimiento previo de que éste puede inducir la expresión de muchas moléculas inflamatorias como: TNF α , IL 1 β , MMP Y VEGF que pueden aumentar la permeabilidad vascular. (27)

A pesar de que el rol de los factores genéticos en la fisiopatología de la enfermedad no está completamente entendido, existe ya una cantidad importante de publicaciones de estudios de polimorfismos genéticos tales como: Loci HLA clase I y II, TNF α , moléculas de adhesión intracelular específico de las células dendríticas y receptor de vitamina D que sugieren que algunos factores genéticos del huésped pueden tener un rol relevante en el desarrollo de las formas severas de la enfermedad. (28,29). Recientemente se realizó un estudio con pacientes mexicanos con el objetivo de establecer el rol del polimorfismo del TNF α en el desarrollo de dengue severo, evaluando el alelo TNF α -238 A y el alelo TNF α -308, en éste estudio se encontró una asociación entre el alelo -238 A y la enfermedad que sugiere un rol de éste polimorfismo en la protección ante el desarrollo de ésta enfermedad. Sin embargo se requieren de más estudios para determinar el rol del TNF y de sus polimorfismos en la fisiopatología de las formas severas. (29)

En otros estudios se ha encontrado que el virus dengue y otros flavivirus son capaces de inhibir la señalización del IFN del huésped para favorecer una infección más productiva y promover la superproducción de inmunomediadores asociados con formas severas. Se demostró la existencia de proteasas del huésped capaces de clivar proteínas no estructurales del virus, encontrándose una relación básicamente con la proteína no estructural NS4B del virus y la capacidad que tiene de inhibir el INF y de inducir inmunomediadores. (30)

Dentro del estudio de la implicación inmunopatogénica de las formas severas de la enfermedad, se ha estudiado además de los niveles de citoquinas, los niveles séricos de algunos receptores solubles como s IL -2 R α y s TNF R –II encontrándose una relación con éste tipo de presentación de la enfermedad. (31)

Es claro que la determinación de estas moléculas en las diversas fases del dengue genera variabilidad en la concentración encontrada, así mismo el método por el cual se determina y finalmente la presencia de algunos factores genéticos propios del huésped podrían alterar los niveles de algunas de estas citoquinas que como el TNF α son afectadas por el polimorfismo presente en el paciente afectado (32).

Niveles de citoquinas en pacientes con dengue (Modificado Referencia 33)

CITOQUINA	DENGUE	DENGUE GRAVE	EFEECTO
IL-1 β	→	→	Sin efecto significativo
IL-2	↑↑	↑	Aclaramiento viral
IL-6	↑	↑↑	Coagulopatía y fuga vascular (ascitis)
IL-8	↓	↑↑	Coagulopatía, fuga vascular (derrame pleural)
IL-10	↓	↑↑	Se aumenta como respuesta reguladora. Trombocitopenia, derrame pleural
IL-12	↑↑	↓	Aclaramiento viral
IL-18	↑	↑↑	Coinductor citoquinas Th1 o Th2
TNF α	↑↑	↑↑	Fuga vascular
IFN φ	↑↑	↑	↑ IL-12
TGF β	↓	↑↑	Acción pro y antiinflamatoria Fase aguda: induce TNF α , IL-1 α . Inhibe citoquinas Th1 y aumenta Th2

→ Sin cambios

↓ Descenso

↑ Ascenso

↑↑ Marcado ascenso

5.4.2 Clínica. Fase inicial o febril, caracterizada por compromiso del estado general y algunos signos tradicionalmente conocidos como mialgia, cefalea y dolor retro ocular, cuya duración es en promedio en niños de 3 a 4 días y en adultos un día más. La segunda fase denominada fase crítica en la que aparecen las manifestaciones de gravedad; como son los signos de fuga vascular, hemoconcentración, o compromiso de algún órgano específico como hígado, corazón o sistema nervioso central indicando el progreso a la forma severa de la enfermedad, la duración de esta fase es corta en general de 24 a 48 horas luego de las cuales se produce la estabilización progresiva al regresar los líquidos de nuevo al espacio intravascular en un periodo que no supera los 3 días, la recuperación también se hará en el leucograma, las plaquetas y en general todos los marcadores bioquímicos y hematológicos alterados, entrando el paciente en la tercera fase o de convalecencia, con la recuperación.

Si bien la mayoría de los pacientes sufren cuadros de evolución leve y recuperación rápida existe un porcentaje que evoluciona a las formas graves.

- La fuga plasmática y ocupación de espacios serosos como pleura y peritoneo que genera una disrupción del equilibrio hídrico en el individuo que puede llevar a choque. Si el cuadro progresa y es mayor aun la fuga de líquidos sin reposición caerá finalmente la presión sistólica y el gasto urinario y es el momento que se ha definido como estado de choque descompensado o hipotensivo. (34,35)
- Sangrado grave: las manifestaciones hemorrágicas son muy importantes en el tracto digestivo que es el más frecuentemente comprometido. El sangrado estará mediado por el compromiso de factores de la coagulación el descenso significativo de las plaquetas, sumado el papel de la disfunción hepática, y a la fibrinólisis. (36)
- Compromiso de órganos: Es el tercer criterio de dengue grave e incluye el compromiso de hígado: es el más frecuente y puede presentarse sin que exista fuga vascular, llevando al paciente a cuadros de hepatitis de severidad variable incluso falla hepática fulminante relacionado como alta mortalidad.

La función hepática se verá alterada con la elevación de las aminotransferasas que documentan actividad e injuria hepato-celular. Se encuentra mayor elevación de AST respecto a ALT en una relación 1.5 a 1, hallazgo diferente a otras hepatitis. (37,38)

Sistema nervioso: Una amplia gama de manifestaciones neurológicas se observa en los pacientes desde cuadros encefalopáticos secundarios a la hipo perfusión y choque con edema cerebral, sangrados, y diferentes grados de compromiso del estado de conciencia; verdaderos cuadros de encefalitis viral con convulsiones incluidas por acción viral directa. En el curso de la enfermedad también se han observado manifestaciones motoras puras (39,40).

Disfunción miocárdica: La disfunción miocárdica se ha asociado a un fenómeno secundario al estado de choque, sin embargo en los últimos años se viene hablando de un nuevo compromiso cardiaco con disminución del flujo coronario, compromiso miocárdico también como órgano blanco primario del virus el cual cambia el curso de la enfermedad, complicando la evolución con alteraciones electrocardiografías observadas en el segmento ST y la onda T, y bradiarritmias. El ecocardiograma muestra hipokinesia global y disminución en la fracción de eyección, lo cual hace importante la detección temprana de este compromiso para realizar una intervención oportuna que disminuya mortalidad.

El dengue debe ser considerado como una causa de falla multiorgánica no solo como consecuencia del choque sino por el compromiso directo de los órganos. (41, 42, 43)

5.5 CLASIFICACIÓN

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.

Grafica 1. Clasificación revisada del dengue.



5.6 DIAGNÓSTICO

Para confirmar la infección se usa entre otros (IgM, IgG para Dengue, NS1. RT-PCR, cultivo viral). El diagnóstico inicial siempre será clínico, con el apoyo de pruebas de laboratorios e imágenes. (5, 44)

5.6.1 Diagnóstico diferencial. Hay que tener en cuenta que los signos y síntomas encontrados en el Dengue no son exclusivos de esta infección y pueden orientar hacia cualquiera de las otras infecciones como Fiebre Tifoidea, Leptospirosis, SDRA, infecciones virales inespecíficas, Enfermedades exantemáticas de la infancia y en zonas endémicas malaria entre otros (45).

5.6.2 Inmunomodulación. El tratamiento del dengue es en gran medida un tratamiento de soporte, con un manejo cuidadoso de líquidos, desafortunadamente no existe actualmente una terapia específica disponible para esta enfermedad.

Teniendo en cuenta la fisiopatología de la enfermedad se ha postulado el posible efecto de medicamentos con capacidad de suprimir la presunta “hiperactividad” del sistema inmunológico del huésped desencadenada por la infección.

El papel de la terapia inmunomoduladora en el dengue no ha sido suficientemente explorada y los resultados hasta el momento han sido contradictorios. Dentro de las posibles terapias con efecto inmunomodulador podemos mencionar

5.6.3 Corticoesteroides. El papel de los esteroides en el choque severo se basa en su capacidad para inhibir la producción de TNF α e INF ϕ y la inhibición de IL-1 β , IL-6 e IL-8. Los esteroides han mostrado efecto en la modulación de la infección por dengue disminuyendo la tasa de células infectadas, sin embargo los ensayos clínicos hasta el momento no han demostrado efectividad, la mayoría carecen de calidad metodológica y fueron realizados hace más de 20 años.

En los últimos años son pocos los estudios que buscan ampliar el conocimiento respecto a éste beneficio, recientemente se llevó a cabo un estudio randomizado, controlado-placebo que tuvo como principal objetivo evaluar la seguridad de la terapia corta (3 días) con corticoesteroide oral en niños y adultos jóvenes vietnamitas utilizada en la fase aguda de la infección por virus dengue, la población se dividió en 3 grupos cada uno recibió ya sea dosis de 1 mg/kg/día, 2 mg/kg/día o placebo, en éste estudio no se evidenció aparte de la hiperglicemia (en un número reducido de pacientes) otro efecto adverso clínico relevante. Existen además de manera reciente reportes de casos que mencionan algún beneficio clínico con el uso de dosis única de metilprednisolona en casos seleccionados de dengue grave, sin embargo actualmente no está recomendado por las guías de manejo de la OMS. (46, 47, 48)

5.6.4 Inmunoglobulina intravenosa. Se ha postulado su posible utilidad, teniendo en cuenta la similitud que existe entre la trombocitopenia del dengue con la fisiopatología de la púrpura trombocitopénica autoinmune en la cual el tratamiento con inmunoglobulina ya ha mostrado su utilidad. Los efectos inmunomoduladores los ejerce a través de la interacción entre los receptores IgG Fc, tiene efecto además en la cascada de citoquinas inducida por el virus, mostrando que es capaz de activar de manera selectiva la producción del antagonista del receptor IL-1 (IL-1ra). Otro aspecto importante en la fisiopatología del dengue es la activación del complemento, la inmunoglobulina intravenosa impide la activación del complejo de ataque de membrana del complemento (C5b-9) y el subsiguiente daño al tejido. Sin embargo el único ensayo aleatorizado controlado publicado hasta la fecha evaluando el efecto de la Inmunoglobulina sobre la trombocitopenia en el dengue mostró resultados decepcionantes. Hasta la fecha no se ha estudiado el efecto de la inmunoglobulina en otras complicaciones del dengue como el shock severo, miocarditis, hepatitis o manifestaciones neurológicas.

5.7 ANTIBIÓTICOS

Diversas clases de antibióticos han mostrado propiedades inmunomoduladoras. Fármacos pertenecientes a las tetraciclinas han sido usados en patologías como esclerosis múltiple y artritis reumatoidea, evidenciando reducción en los niveles de citoquinas proinflamatorias principalmente TNF α , e IL-1 β . Estudios han mostrado beneficio clínico con el uso de doxiciclina en el tratamiento de infección por virus dengue al modular la cascada de citoquinas. Además se ha evidenciado un papel adicional de éste fármaco al ser capaz de interactuar con la proteína E del virus, inhibiendo un cambio conformacional que constituye un paso esencial en el cual el virus ingresa a las células susceptibles, sin embargo éste estudio tiene deficiencias metodológicas que no permiten determinar aspectos concluyentes. (50)

5.8 PENTOXIFILINA

La Pentoxifilina es un derivado de la metilxantina con propiedades similares a la cafeína y teofilina. Posee actividad anti-citoquina por embotamiento de la actividad proinflamatoria del TNF alfa. Se ha demostrado que inhibe la acción de los neutrófilos activados. A través de un estudio prospectivo, randomizado, doble ciego se evaluó por primera vez la efectividad del uso de pentoxifilina en casos de dengue grave. Se encontró un beneficio en la menor estancia hospitalaria, una reducción significativa en los niveles séricos de TNF alfa 24 horas posteriores al inicio de la medicación. Sin embargo estos resultados deben ser interpretados con cautela debido a que existe una variación en los niveles de ésta citoquina entre diferentes individuos, así como en el mismo individuo en momentos diferentes de la enfermedad aguda. Debido a éstos factores el papel de la pentoxifilina en la mediación de los efectos de TNF alfa no ha sido aún demostrada de manera concluyente. (51)

5.9 VITAMINA D

La 1α ,25 hidroxicalcitríol-vitamina D3 (VD3) es una forma activa biológica del 7-hidroxicolesterol en la piel y de la 25-dihidroxi-vitamina D en hígado y riñón que tiene amplio efecto sobre la diferenciación y proliferación celular, capacidad inmune en respuesta a monocitos/macrófagos, células dendríticas y linfocitos. El uso de VD3 ha sido propuesto para el tratamiento de enfermedades autoinmunes, enfermedades infecciosas bacterianas y virales. Sin embargo es escaso el conocimiento sobre el mecanismo de acción antiviral.

En macrófagos activados, la expresión de varias citoquinas, incluyendo principalmente TNF e IL-6 es dependiente de la activación del factor nuclear kappa-B, una vía conocida de ser modulada por VD3. Un estudio experimental en cultivos celulares infectados por el virus dengue mostró una diferencia en la modulación en la producción de citoquinas, razón por la cual plantean la importancia de evaluar una posible intervención terapéutica o profiláctica en algún momento de la infección por virus dengue. (52)

Existe un estudio en población pediátrica cuyo objetivo fue investigar la seguridad y eficacia de una única dosis de “carga” de vitamina D3, seguida de la suplementación oral de vitamina D en niños con fibrosis quística quienes tenían deficiencia de ésta vitamina, definida ésta como niveles inferiores a 75 nmol/l. la dosis a administrar se basó en la edad del niño y los niveles séricos previamente encontrados

Este estudio demostró que única dosis de “carga” de vitamina D es capaz de obtener y mantener niveles superiores a 75 nmol/l por un periodo de 12 meses. Posterior al tratamiento no se presentaron alteraciones en parámetros bioquímicos tales como hipercalcemia, hiperfosfatemia, náuseas o cálculos renales, lo cual lo constituye en un medicamento seguro durante la edad pediátrica. (53)

Recientemente se llevó a cabo también otro estudio que tuvo como objetivo examinar niveles de vitamina D, hormona paratiroidea (PTH) y niveles de calcio-fósforo como biomarcadores de estrés oxidativo, inflamación, y activación endotelial como potenciales contribuyentes para las complicaciones vasculares en niños obesos. En este estudio se detectó que niveles bajos de 25 (OH) encontrados en obesidad severa se correlacionaba con niveles elevados de marcadores de estrés oxidativo, inflamación y activación endotelial, tales como niveles de malondialdehído (marcador final de la lipoperoxidación), actividad mieloperoxidasa (enzima presente en los fagosomas de neutrófilos y monocitos con actividad microbicida), ambos se han asociado con la iniciación y propagación de especies reactivas que presentan objetivos atractivos para las células inflamatorias. Además se correlacionaron con niveles elevados de citoquinas proinflamatorias como la IL-6 y de molécula de adhesión de células vaculares solubles. (54)

5.10 ESTATINAS

Uso frecuente a nivel mundial, actúan inhibiendo la 3-hidroxi-3 metilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA), eficaces para la reducción de lípidos

sanguíneos con conocido efecto importante en la reducción de la mortalidad por enfermedad cardiovascular. Recientemente se han encontrado beneficios adicionales con el uso de éstos fármacos, los cuales incluyen restauración o mejoría en la función celular endotelial con aumento de la producción de óxido nítrico, reducción en la liberación de citoquinas y proteínas de fase aguda, estos efectos conducen a una reducción de la inflamación dentro de la pared del vaso. Estudios observacionales sugieren que ésta terapia puede brindar mejores resultados para una amplia gama de enfermedades que incluyen sepsis y lesión pulmonar aguda.

Una de las características importantes en sepsis y dengue es el aumento de la permeabilidad vascular como resultado de una disrupción endotelial secundaria en parte a la exposición de mediadores inflamatorios, esto mecanismo fisiopatológico sugiere un posible beneficio con el uso de estatinas en éstas dos condiciones. Además estudios in vitro han demostrado que la lovastatina puede tener un efecto antiviral en dengue mediante la reducción de ensamblaje del virión. Actualmente se encuentra en curso un estudio randomizado, doble ciego que compara lovastatina con placebo en pacientes adultos con diagnóstico de dengue que busca un potencial beneficio con el uso de estatinas en dengue. (55)

5.11 CLOROQUINA

La cloroquina es un fármaco del grupo de las 4 aminoquinolinas, económico, ampliamente disponible y bien tolerado que ha mostrado in vitro modestos efectos antivirales sobre la replicación del virus en diversas familias taxonómicas.

En el contexto de la infección por el virus dengue, la cloroquina debido a sus propiedades liposomotrópicas leves podría ejercer una actividad antiviral al interferir con la fusión endosomal dependiente de furina, necesaria para la maduración del virus. El tratamiento con cloroquina de células infectadas por DENV-2 reduce la infectividad producida por el virus de 6 a 8 veces, posiblemente por reducción en la eficiencia de proceso de maduración del virus. La cloroquina también puede modular la respuesta del huésped a la infección, el reconocimiento de los productos virales por las células dendríticas se produce a través de una vía TLR-dependiente que requiere la acidificación de los endosomas. Además puede atenuar la respuesta de citoquinas inflamatorias, y es así como se usa para patologías con desórdenes inflamatorios, tales como la artritis reumatoidea y el LES. Probablemente por su efecto antiinflamatorio se explica la capacidad antipirética observada en el tratamiento de pacientes con malaria.

En un estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo en adolescentes y adultos con dengue se evaluó a la cloroquina como una potencial terapia antiviral. No se encontró ninguna diferencia estadísticamente significativa entre el grupo que recibió cloroquina vs placebo, tampoco se evidenció un efecto en la reducción de la viremia. A pesar que éste estudio no mostró ninguna evidencia convincente de la capacidad de la cloroquina para modificar los niveles de las citoquinas proinflamatorias y reducir la viremia, existen limitaciones en el diseño que hacen necesario ampliar estas investigaciones. (56)

5.12 MANEJO ANTIVIRAL

5.12.1 Balapiravir. El Balapiravir es un profármaco de un análogo de nucleósido (4'-azidocitidina), llamado R1479 y que fue desarrollado para el tratamiento de la infección por el virus de la hepatitis C, éste fármaco inhibe la polimerasa. Debido a que el virus de la hepatitis C y el virus dengue poseen RNA polimerasa RNA-dependiente que comparten una estructura similar se ha explorado in vitro la actividad de éste antiviral ante el virus dengue.

Se realizó un estudio randomizado, doble-cego controlado con placebo en el cual se diseñaron dos cohortes con el objetivo de evaluar la utilidad de éste fármaco en infección por virus dengue. (57)

6. METODOLOGÍA

6.1 TIPO DE ESTUDIO

Se realizó un estudio de cohorte prospectivo en el servicio de Pediatría del Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo y la ESE Carmen Emilia Ospina (IPC) de Neiva durante un período comprendido entre enero 2011 y agosto 2012.

6.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

Se incluyeron 180 pacientes con edades entre 2 meses y 14 años los cuales fueron atendido en el servicio de Pediatría del Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo y la ESE Carmen Emilia Ospina (sede IPC), se retiraron durante el seguimiento 7 pacientes, de ésta manera los 173 pacientes quedaron distribuidos así: DG 60 pacientes, DCSA 55 pacientes y DSSA 58 pacientes.

6.2.1 Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de Neiva. Empresa Social del Estado de III y IV nivel de complejidad en salud en la ciudad de Neiva, importante centro de referencia del sur del País. Que se encuentra en capacidad de ofrecer servicios en:

- Consulta médica especializada
- Urgencias
- Cirugía
- Hospitalización
- Unidad de cuidado crítico de adultos, ginecoobstetricia, neonatos y pediátrica
- Apoyo diagnóstico y complementación terapéutica
- Unidad de Salud mental
- Unidad renal
- Unidad de trasplante

- Unidad de cancerología

6.2.2 ESE Carmen Emilia Ospina. Empresa social del estado de I nivel de complejidad, en la ciudad de Neiva, que se encuentra en capacidad de ofrecer servicios en:

- Consulta externa de medicina general y odontología
- Laboratorio clínico
- Urgencias de baja complejidad
- Rx de I nivel
- Ecografía obstétrica
- Farmacia
- Atención de partos de bajo riesgo
- Hospitalización de baja complejidad
- Vacunación
- Detección temprana de las alteraciones de crecimiento y desarrollo (menores de diez años).
- Detección temprana de las alteraciones del joven (10-29 años)
- Toma y lectura de citologías
- Detección temprana de las alteraciones en la agudeza visual
- Atención preventiva en la salud oral
- Atención en planificación familiar
- Detección temprana de las alteraciones en el embarazo
- Ambulancias las 24 horas.

6.2.3 Criterios de inclusión para dengue. Caso probable de dengue según definición de OMS 2009.

Todo paciente que presente una enfermedad febril aguda de hasta siete días, de origen no aparente, acompañada de 2 o más de los siguientes síntomas: Cefalea, Dolor retro ocular, Mialgias, Artralgias, Postración, Exantema, acompañado o no de hemorragias.

Hemograma sugestivo de enfermedad viral

Antecedente de desplazamiento, (hasta 15 días antes del inicio de síntomas) o resida en un área endémica de dengue.

6.2.4 Criterios de inclusión para dengue con signos de alarma. Paciente que cumple con la anterior definición y además presenta cualquiera de los siguientes signos de alarma: Dolor abdominal intenso y continuo, vómito persistentes, diarrea, somnolencia y/o irritabilidad, hipotensión postural, hepatomegalia dolorosa > 2cm, disminución de la diuresis, caída de la temperatura, hemorragias en mucosas, caída abrupta de plaquetas (<100.000) asociada a hemoconcentración.

6.2.5 Criterio de Inclusión dengue grave. Paciente con criterio de dengue grave según OMS clasificación revisada.

Paciente con antecedente previo de fiebre que presenta cualquiera de las siguientes manifestaciones:

Extravasación severa del plasma

Hemorragias severas según criterio clínico

Daño grave de órganos

Para todos los pacientes es requisito que los padres y pacientes acepten participar en el estudio y se realice la firma del consentimiento informado.

6.2.6 Criterios de exclusión

- Imposibilidad de seguimiento
- Enfermedad del colágeno, neoplasias
- Cardiopatía Congénita o patología crónica o neoplásica
- No acepta la inclusión en el estudio

6.3 PRUEBA PILOTO

Previo al inicio de la recolección de la información, se realizó una prueba piloto con 15 pacientes que incluían pacientes hospitalizados y ambulatorios, a los cuales se aplicó los formularios previamente diseñados, con el objetivo de evaluar si la información allí registrada era la adecuada y suficiente para los objetivos planeados. Luego de ésta prueba piloto se realizaron algunas modificaciones a los formatos tanto hospitalarios como ambulatorios conformando de ésta manera los formularios que nos sirvieron como instrumento para la recolección de la información.

6.4 INTERVENCIONES

Durante el estudio se llevó un registro médico diario en formatos diseñados desde el día del ingreso (correspondiente a día 0) hasta egreso del paciente, con formato de visita de control en la convalecencia. (Día 14), a cada paciente se le asignó un código (Ver anexos).

Todos los pacientes fueron tratados de acuerdo al protocolo nacional para manejo de dengue.

Diagnóstico:

RT- PCR, NS1, Ig M, IgG y cuadro clínico.

NS1, Ig M, IgG: Se realizaron mediante técnica de Elisa según Kits comerciales (Pan-Bio).

La determinación de RT- PCR para virus dengue se llevó a cabo en el laboratorio de inmunología de la Universidad Surcolombiana.

Desde el punto de vista inmunológico se realizó medición de las siguientes citoquinas: TNF α , sTNFR2, IL2, sIL2, VEGF, VEGFR2, IL10 y ST2. IL6, IL1 B, IL 8, IL12P70. Se tomaron 2 ml de sangre total y se aisló plasma para análisis inmunológico al ingreso del paciente al estudio, se repitió toma del mismo volumen, a las 24 y 48 horas.

Los factores inmunes que se analizaron en este estudio se determinaron usando dos metodologías:

La citometría de flujo fué usada para determinar la concentración plasmática de IL-2, IL-10, IL-6 y TNF α . Para esto, Una mezcla de diferentes poblaciones de esferas cubiertas con anticuerpos (Ac) monoclonales, fueron incubadas secuencialmente con las muestras de plasma de los pacientes o curva estándar y posteriormente con un Ac de detección. Entre cada paso, las muestras fueron lavadas y resuspendidas para finalmente ser adquiridas en un citómetro de flujo FACScalibur. Esta metodología ya había sido previamente usada y validada (Detección de Interleuquinas por cytometric Bead Array (CBA))

Por otro lado, la medición de IL-2R, ST2, sTNF α RII, VEGF, VEGF RII, se hizo mediante la técnica de ELISA usando estuches comerciales provenientes de R&D previamente usados

Además, se incluyeron las pruebas de Laboratorio clínico: Hemograma, plaquetas, GOT, GPT, CPK total, CPK-MB, Dímero d, fibrinógeno, troponina I, albumina, LDH, BUN Creatinina, electrolitos. De acuerdo a las técnicas estandarizadas en el laboratorio clínico del Hospital Universitario de Neiva.

Imágenes: RX decúbito lateral derecho a todos los pacientes, electrocardiograma, ecocardiograma y RNM en caso de sospecha de compromiso de dichos órganos.

6.5 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

La información recolectada se ingresó a una base de datos en el programa Excel. A ésta información se le realizó crítica en cuanto a coherencia, adecuado diligenciamiento en cantidad y calidad. Posteriormente se realizó el análisis en el programa SPSS versión 15.

6.6 PLAN DE ANÁLISIS

Se realizó un análisis univariado calculando las medidas de tendencia central (mediana) y de variabilidad (rango). Los datos se presentan en tablas y gráficas.

Se compararon los grupos respecto a las variables utilizando pruebas no paramétricas como la de mann whitney, (dos colas), con las variables en las cuales se encontró diferencia estadísticamente significativa se realizó una regresión logística para identificar posibles variables predictoras.

Para las variables nominales se calculó chi cuadrado.

6.7 VARIABLES

6.7.1 Definición de variables clínicas

VARIABLE	CATEGORÍA	TIPO DE VARIABLE	INDICADOR
Sexo	Femenino/masculino	Nominal	Razón, %
Diagnóstico	Dengue/ Dengue con signos de alarma/Dengue grave	Nominal	%
Día de fiebre	1,2,3,4,5,6.....	Cuantitativa	%, mediana
Vomito	Sí/No	Nominal	%
Dolor abdominal	Sí/No	Nominal	%
Distensión abdominal	Sí/No	Nominal	%
Diarrea	Sí/No	Nominal	%
Alteración en la conciencia	Sí/No	Nominal	%
Sangrado	Sí/No	Nominal	%
Ascitis	Sí/No	Nominal	%
Dolor al palpar abdomen	Sí/No	Nominal	%
Conciencia	Alerta/irritable/somnoliento/coma	Ordinal	Mediana
Glasgow	3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15/15	Ordinal	Mediana
Días de hospitalización	2,3,4.....	Cuantitativa	Mediana
Manejo en UCIP	Sí/no	Nominal	%
Días de manejo en UCIP	1,2,3,4,	Cuantitativa	Mediana
Egreso	Vivo/muerto	Nominal	Mediana

Definición de variables de laboratorio

VARIABLE	CATEGORÍA	TIPO DE VARIABLE	INDICADOR
Hematocrito	24,25,26...	Cuantitativa	Mediana
Leucocitos	/cc ³	Cuantitativa	Mediana
Plaquetas	/cc ³	Cuantitativa	Mediana
TP	En segundos	Cuantitativa	Mediana
TPT	En segundos	Cuantitativa	Mediana
Fibrinógeno	UI/L	Cuantitativa	Mediana
Dímero D	UI/L	Cuantitativa	Mediana
TGO	UI/L	Cuantitativa	Mediana
TGP	UI/L	Cuantitativa	Mediana
CPK-T	UI/L	Cuantitativa	Mediana
CK-MB	UI/L	Cuantitativa	Mediana
Troponina I	Positiva/negativa	Cuantitativa	%
Albúmina	g/dl	Cuantitativa	Mediana
Glicemia	mg/dl	Cuantitativa	Mediana
Ig M dengue	Positivo/negativo	Cuantitativa	%
Ig G dengue	Positivo/negativo	Cuantitativa	%
NS1 dengue	Positivo/negativo	Nominal	%
RT-PCR	Positivo/negativo	Cuantitativa	Mediana

Definición de variables inmunológicas

VARIABLE	CATEGORÍA	TIPO DE VARIABLE	INDICADOR
TNF	pg/ml	Cuantitativa	Mediana
s TNF R	pg/ml	Cuantitativa	Mediana
IL-2	pg/ml	Cuantitativa	Mediana
s IL-2 R	pg/ml	Cuantitativa	Mediana
VEGF	pg/ml	Cuantitativa	Mediana
VEGF R	pg/ml	Cuantitativa	Mediana
ST2	pg/ml	Cuantitativa	Mediana

Definición de variables de imágenes

VARIABLE	CATEGORÍA	TIPO DE VARIABLE	INDICADOR
Derrame pleural	Porcentaje	Cuantitativa	%
Normalidad de ecocardiograma	Sí/No	Nominal	%

7. ASPECTOS ÉTICOS

El presente estudio es un proyecto financiado por Colciencias y la Universidad Surcolombiana, ninguno de los participantes tiene conflictos de interés.

Se tuvo en cuenta las consideraciones establecidas en la Resolución 8490 de 1993 del Ministerio de la Protección Social Capítulos 1 y 3.

Previo al inicio del proyecto éste fue presentado ante el comité de ética del Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de Neiva obteniendo la aprobación de éste comité para su realización.

Para el ingreso de cada paciente se llevó a cabo la firma del consentimiento informado por parte de padres o cuidadores legales (Anexo A.).

Toda la información concerniente al estado de cada paciente incluido se registró en los formatos previamente diseñados y luego se ingresó ésta a la base de datos que ha sido resguardada bajo los estrictos lineamientos de confidencialidad.

Los resultados de ésta investigación serán empleados para beneficio de los pacientes que cursen con infección por el virus dengue, ya que permitirá ampliar el conocimiento de la fisiopatología de ésta enfermedad y de ésta manera se propondrán medidas tanto diagnósticas como terapéuticas que permitan un manejo más oportuno, contribuyendo de ésta manera a reducir el desenlace desfavorable de ésta patología.

8. RESULTADOS

Durante el periodo comprendido entre enero de 2011 y agosto de 2012 se incluyeron 173 pacientes con diagnóstico de dengue distribuidos en tres grupos así: Dengue sin signos de alarma (DSSA) 58, Dengue con signos de alarma (DCSA) 55 y dengue grave (DG) 60.

Todos los pacientes incluidos fueron menores a 15 años con una media de 72 meses observando una media similar para los niños con las formas más severas de dengue. Vale la pena comentar que se presentaron niños menores de 1 año en el 11,5% contando los 3 grupos de dengue

La distribución por género fue similar para los tres grupos.

La evolución de la enfermedad fue menor para el grupo de dengue sin signos de alarma con diferencia de 1 día frente a los dos grupos de mayor compromiso.

En cuanto a la sintomatología el dolor abdominal marca una clara diferencia entre los grupos superado en el 100% por las formas severas de dengue (DCSA y DG), situación similar se observó en vómito y sangrado. (Tabla 1). La diarrea aunque se presentó se observó una relación inversa a lo sucedido con las otras manifestaciones gastrointestinales en dengue.

Los signos evidentes de fuga vascular solo se observaron en DCSA y DG; con ascitis cuya presentación fue significativamente diferentes para las formas severas ($p < 0,000$) y con una mediana de 30% de derrame pleural en DG.

Tabla 1. Características demográficas y sintomatología.

Características	DG (n= 60)	DCSA (n=55)	DSSA (n=58)	P*
Sexo	F 55%	F 47,3%	F 55,2%	0,75
Edad*	72 (2-156)	72 (12-156)	48 (6-180)	0,000
Días de* fiebre	5 (2-7)	5 (3-7)	4(2-10)	0,001
Vómito	Si 78,3 %	Si 76,4%	Si 25,9%	0,000
Dolor Abdominal	Si 23,3%	Si 81,8%	Si 34,5%	0,000
Diarrea	Si 20,7%	Si 21,8%	Si 5,2%	0,002
Alteración de conciencia	Si 5,2%			0,000
Sangrado	Si 20,7%	Si 14,5%	Si 3,4%	0,001
Ascitis	Si 24,1%	Si 7,3%		0,000

* Valores son Medianas (intervalo de confianza 95%) + Chi²

De los laboratorios procesados, es de resaltar la presencia de transaminasas con valores aumentados de manera significativa específicamente en formas complicadas de dengue, pero especialmente en dengue grave con p 0,000 al igual que el recuento plaquetario con una clara disminución en los mismos grupos (Tabla 2).

El hematocrito se demostró aumentado en todos los grupos.

Los tiempos de coagulación mostraron diferencia significativa entre formas graves de dengue relacionado con dengue sin signos de alarma (Tabla 2)

No se observó diferencia o anomalía de los valores del fibrinógeno pero si un aumento del dímero D en los niños con DCSA y DG, otros estudios como

albumina y glucosa presentaron diferencia entre DG y DCSA. En cuanto a CPK-T y MB sus valores se encuentran elevados en las formas graves de dengue ($p < 0,000$).

Tabla 2. Estudios de laboratorio en los pacientes de los 3 grupos clasificados de acuerdo a su diagnóstico.

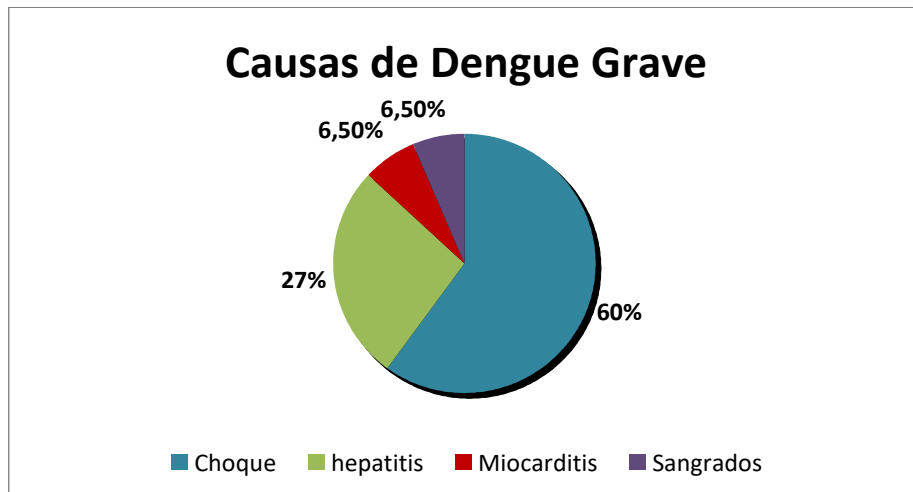
Biomarcadores	DG (n=60)+	DCSA (n=55)+	DSSA (n=58)+	p^*	
				DG vs DCS	DG vs DSSA
Hematocrito %	37,4(11 – 54)	36,5 (27- 56)	37,2 (30- 45)	0,258	0,548
Leucocitos (mm ³)	3.650 (1010- 8.100)	3.400(2000- 9.200)	3.900 (1.030 – 9.800)	0,155	0,119
Plaquetas (mm ³)	34.500 (9.000- 440.000)	70.000 (14.000- 325.000)	146.500 (30.000- 291.000)	0,000	0,000
TP segundos	15,8-(12- 30)	14,1-(11- 24)		0,001	
TPT segundos	46,7 (12- 180)	40 (21-94)		0,001	
Dímero D(mcg/L)	2.108(503- 4848)	2.050 (421- 8643)		0,539	
Fibrinógeno (mg/dl)	249,5 (71- 408)	261 (84- 510)		0,158	
AST (UI/L)	212,6(51- 349)	117,7 (22- 657)		0,000	
ALT (UI/L)	88,5 (18- 179)	41 (9- 341)		0,000	
CPK-T (UI/L)	105 (30- 560)	140,5 4- 4067)		0,310	
CPK-MB (UI/L)	33,1 (4- 318)	31,7(8 – 668)		0,746	
Albumina (g/dl)	3 (2- 4)	3,4p (3- 4)		0,000	
Glicemia (mg/dl)	101,5 (55- 53)	93 (55- 149)		0,008	

Fuente :DG= Dengue grave; DCSA= Dengue con signos de alarma; DSSA= Dengue sin signos de alarma; TP= Tiempo protrombina; TPT= Tiempo tromboplastina parcial; AST= Aspartato amino transferasa; ALT= Alanino amino transferasa; CPK= Creatin fosfoquinasa; CPK MB: Creatin fosfoquinasa MB.

+ Valores son Medianas (intervalo de confianza 95%)

Dentro de las causas de dengue grave, fueron ingresados por choque 36 pacientes (60%), 16 (26%) cursaron con hepatitis, 4(7%) con miocarditis y 4(7%) con sangrado severo todos ellos de tracto digestivo. (Grafica 1).

Gráfica 2. Causas de dengue grave.



Se presentaron tres casos de mortalidad, dos secundarios a hepatitis fulminante y uno con falla multiorgánica.

Tabla 3. Estudios inmunológicos completos.

Citoquina	Fase	DG (n=60)	DCSA (n=55)	DSSA (n=58)	p*	
					DG vs DCS	DG vs D
sTNFR pg/ml	Aguda	9359 (0,3-23917)	8209,8, (2524-22305,7)	6739(1005-34781)	0,484	0,02
	Convalecencia	2990(0-7524)	2558(0,3-11792)	1779,8, (294,7-35323)	0,000	0,000
siL2 pg/ml	Aguda	4191(1180-16980)	3791(502-9997)	1689(5- 20602)	0,135	0,000
	Convalecencia	968- 4628)	1691(259-4579)	312,7(5- 16003)	0,56	0,000
VEGF pg/ml	Aguda	50,9(4,5-472,5)	46,8(4,5 -455)	4,5(4,5- 778)	0,92	0,000
	Convalecencia	108(14,2-1044)	127,7(4,5-1023)	4,5(4,5- 593)	0,57	0,000
VEGFR2 pg/ml	Aguda	8542, (1940-24643)	9966(3743-29526,8)	17469(2253-55435)	0,066	0,000
	Convalecencia	15415(302-23081)	15632(8302-29526,8)	15448,8(3067,8-58887,6)	0,78	0,801
St2pg/ml	Aguda	1916(0-13717)	437,5(0-4623)	182,9(15-7756,8)	0,000	0,000
	Convalecencia	15(15-22,6)	15(15 –8,9)	15(15- 24,4)	0,000	0,27
IL6 pg/ml	Aguda	6,5(0-215)	8,4(1- 70,6)	3,59(1,0-18,88)	0,098	0,003
	Convalecencia	1,5(1- 16)	1(0,4- 8,2)	1,0(1,0- 15,17)	0,75	0,04
IL10 pg/ml	Aguda	38,95(1,4-232)	34,7(4,6-699)	22,45(1,6, 173,36)	0,27	0,427
	Convalecencia	1,6(1,1-8,4)	1,6(0,1-0,1)	1,6 (1,6- 8,36)	0,34	0,65
IL8 pg/ml	Aguda	20,3(0-94,7)	24(6,7-202)	13,24(4,47-30,63)	0,084	0,000
	Convalecencia	5,5,(1-18,8)	8(1- 145)	5,40(1,8- 42,28)	0,000	0,52

Fuente :DG= Dengue grave; DCSA= Dengue con signos de alarma; DSSA= Dengue sin signos de alarma
* U de Mann –Whitney

FASE AGUDA

Citoquina	DG VS DCSA	<i>P</i> *	DG VS DSSA	<i>P</i> *
STNFR	DG >DCSA	0,484	DG >DSSA	0,02
sIL2	DG >DCSA	0,13	DG >DSSA	0,000
VEGF	DG >DCSA	0,92	DG >DSSA	0,000
VEGFR2	DG <DCSA	0,066	DG< DSSA	0,000
St2	DG >DCSA	0	DG >DSSA	0,000
IL6	DG<DCSA	0,098	DG >DSSA	0,003
IL8	DG<DCSA	0,084	DG >DSSA	0,000
IL10	DG>DCSA	0,27	DG >DSSA	0,4

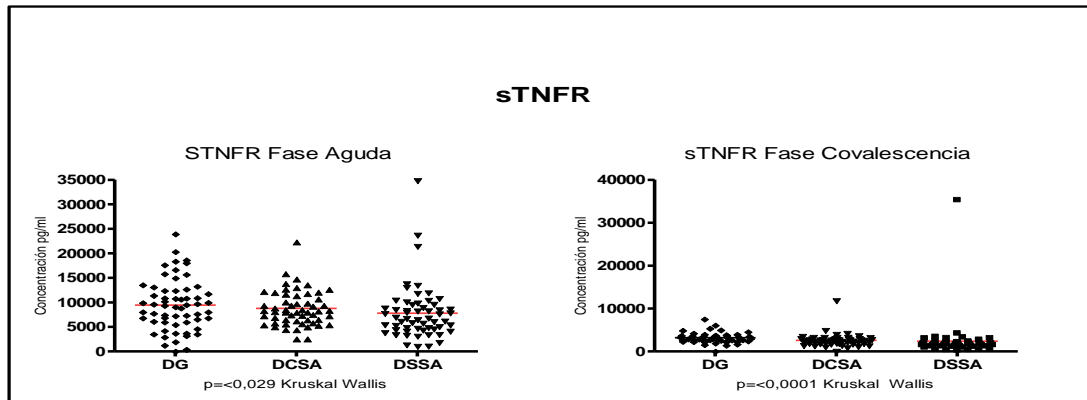
Fuente :DG= Dengue grave; DCSA= Dengue con signos de alarma; DSSA= Dengue sin signos de alarma * U de Mann –Whitney

FASE CONVALESCENCIA

Citoquina	DG VS DCSA	<i>P</i> *	DS vs D	<i>P</i> *
STNFR pg/ml	DG >DCSA	0,001	DG > D	0,000
sIL2 pg/ml	DG >DCSA	0,56	DG > D	0,000
VEFG pg/ml	DG <DCSA	0,57	DG > D	0,000
VEGFR pg/ml	DG <DCSA	0,78	DG > D	0,8
St2 pg/ml	DG =DCSA	0,000	DG = D	0,27
IL6 pg/ml	DG >DCSA	0,75	DG < D	0,049
IL8 pg/ml	DG<DCSA	0,000	DG > D	0,000

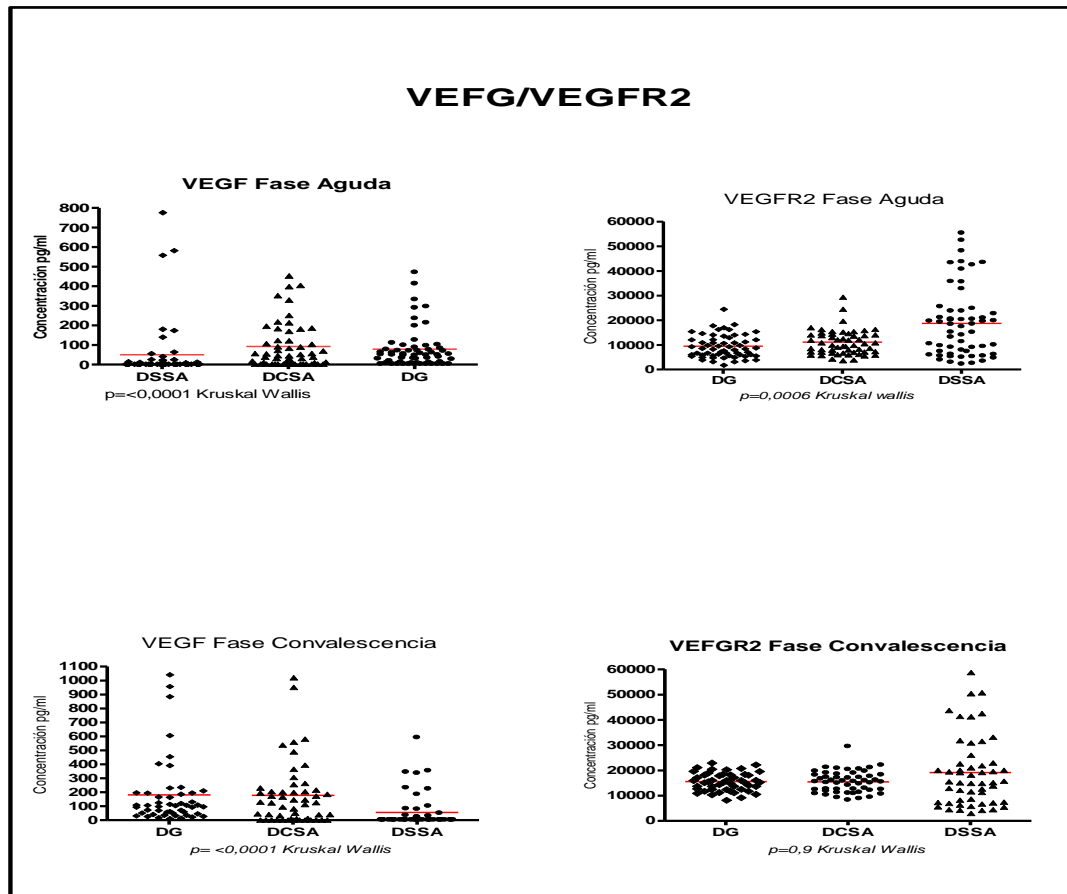
Fuente :DG= Dengue grave; DCSA= Dengue con signos de alarma; DSSA= Dengue sin signos de alarma * U de Mann –Whitney.

El sTNFRII mostró diferencia estadísticamente significativa con las determinaciones realizadas entre los diferentes grupos. (Tabla 3).



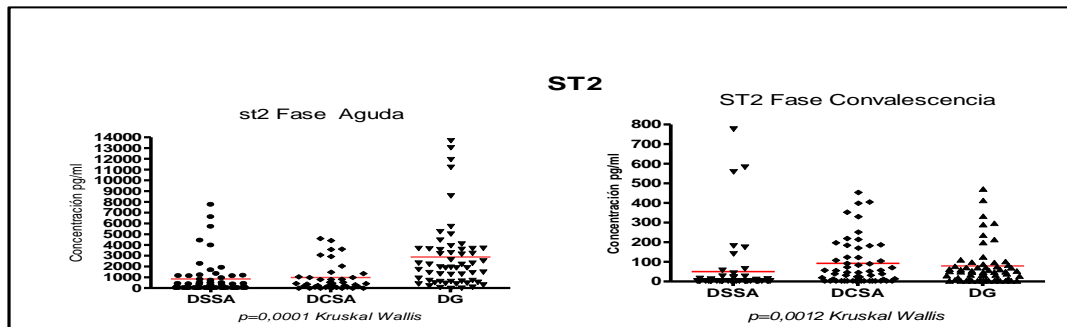
El VEGF, esta citoquina muestra una muy interesante progresión en cuanto a sus valores mostrando diferencias estadísticamente significativas tanto en la fase aguda como en la fase convaleciente, específicamente entre dengue grave y dengue sin signos de alarma ($p < 0.0000$) y muestra como existe diferencia estadísticamente significativa entre dengue sin signos de alarma y dengue con signos de alarma ($p = 0.0000$), es decir que hay diferencia entre las formas más severas de dengue y los otros grupos comparados.

El VEGFRII, este receptor evidencia diferencias entre las fase aguda y fase convaleciente en todos los grupos, sin embargo los datos más interesantes se hacen significativos entre dengue grave y dengue sin signos de alarma ($p = 0.0000$).



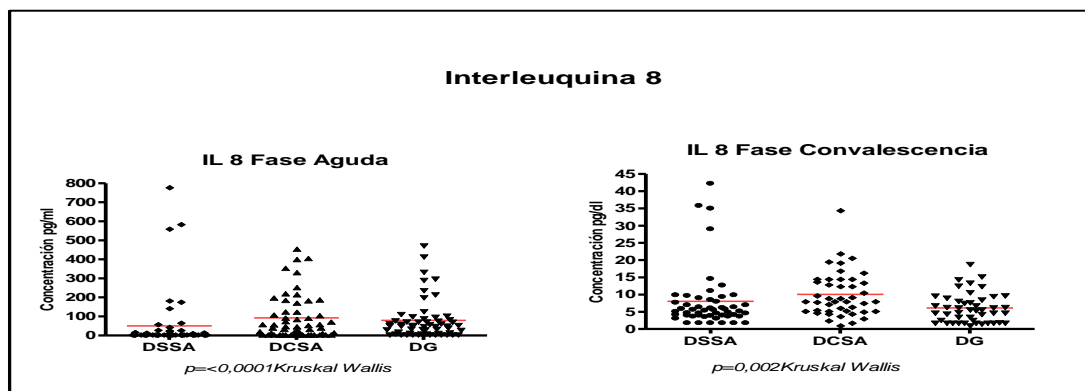
ST2, este marcador es el que evidencia claramente diferencia significativa entre dengue grave con cualquiera otro de los grupos como se muestra en la tabla, convirtiéndose en un marcador específico para dengue grave (Tabla 3).

Se observa en la convalecencia disminución de este marcador en todos los grupos.



La IL6 muestra en la fase aguda incremento en sus valores en las formas complicadas de dengue con diferencia estadísticamente significativa respecto a dengue sin signos de alarma (p 0,003). En la convalecencia demuestra la disminución de la citoquina a valores apenas detectables.

En cuanto a la IL8 se observan valores de medianas muy parecidos en las formas de DG y DCSA que son mayores de forma significativa p 0,001 respecto a DSSA, cifras que durante la convalecencia bajan a niveles normales.



La IL10 durante la fase aguda presentó valores similares en los pacientes de los 3 grupos de dengue y en convalecencia medias mínimas similares en todos los grupos.

Dentro de las pruebas diagnósticas realizadas a los pacientes el NS1 mostro una positividad del 64% tanto para dengue como para dengue grave y alrededor de 50% para dengue con signos de alarma, se encontró dengue secundario solo en la mitad de los pacientes con dengue, en el 90% de los niños con signos de alarma y en el 80% de dengue grave.

La determinación de serotipos realizada fue positiva en el 64% del total de casos, observándose DEN 2 en el 30% de los niños, DEN 1 en el 27%, DEN 3 en el 4,5% y DEN 4 en 1,7% un caso presento DEN1 y DEN2 simultáneamente; de acuerdo a la clasificación clínica se evidencio mayor porcentaje del serotipo 1 (DEN 1) en los pacientes con dengue sin signos de alarma, mientras que el serotipo dos (DEN2) fue el más frecuente en dengue grave y en dengue con signos de alarma estos dos serotipos se encontraron en igual número de casos (Tabla 4).

Tabla 4. Diagnóstico de laboratorio.

Diagnostico	Serologías (ELISA)				Virología(PCR)			
	NS1	IgM 1	IgM2	IgG	DEN1	DEN2	DEN3	DEN4
Dengue Positiva Negativa	38 21	51	59	32 26	24	8	4	2
DCSA Positiva Negativa	28 27	53	55	50 5	12	12	3	0
D:GRAVE Positiva Negativa	38 22	60	60	48 12	11	31	1	1

9. DISCUSIÓN

El dengue continúa siendo una patología de alta prevalencia en los países de América donde ha tenido su expansión más importante en los últimos años. Incluidos los países del área andina donde se encuentra Colombia. Durante el año 2010 se presentó la epidemia más grande del último siglo en Colombia con más de 156000 casos (1), sin embargo a pesar de toda predicción apareció un nuevo brote en el año 2012, (2) situación no esperada y que plantea la importancia en la carga de esta enfermedad cuya epidemiología cambió; el reconocimiento oportuno y la búsqueda de soluciones para combatirla están a la orden del día.

Considerando que el dengue es una enfermedad con cuadro clínico espectral que tiene una forma grave de presentación con importante número de ingresos a las unidades de cuidado crítico y mortalidad en aumento en los países con altas prevalencias como el nuestro se plantea la búsqueda de biomarcadores orientadores de evolución clínica grave en espera de poder hacer intervenciones tempranas y de esta manera disminuir mortalidad por esta causa.

El presente estudio realizado en Neiva en una institución de 3 nivel de atención donde se realiza manejo de niños con dengue grave y dengue con signos de alarma, en tanto que los niños con dengue sin signos de alarma fueron captados en una institución de primer nivel.

Todos los niños fueron menores de 15 años , se encontraron diferencias en cuanto a algunos aspectos demográficos tal es el caso de la edad en la que los pacientes con dengue se encontraron en el grupo de escolares (Mayores a 4 años) como es referido en la literatura (58) y solo un grupo muy pequeño (11%) correspondió a lactantes.

La patogénesis del dengue no ha sido completamente dilucidada y otros factores como los relacionados con la respuesta inmune ofrecen un amplio campo de interés uno de cuyos aspectos es la liberación de citoquinas y/o sus receptores solubles a partir de células blanco del VD (células del sistema inmune, músculo, hepatocito y endotelio entre otras) los niveles elevados de algunas de ellas se han relacionado con mayor severidad clínica es el caso de el interferón alfa, el TNF , IL1 R , IL 2R, IL8, IL 10, St2, TRAIL, VEGF y VEGFR2 todos ellos actuando sobre el evento central de la génesis de severidad clínica es decir la fuga plasmática y choque, por aumento de la permeabilidad vascular con blanco en el endotelio. (59,60,61,62,63,64). En esta serie se pudo demostrar el incremento en forma aguda del sTNRF, IL2, IL 6, IL10, ST2, VEGF y disminuida VEGFR2, en fase

aguda con diferencias estadísticamente significativas entre las formas graves y DSSA coincidiendo con lo planteado en la literatura, también se demostró la normalización de los niveles de las citoquinas en la convalecencia.

Una inadecuada regulación a pesar de altos de niveles de IL-10 se ha correlacionado con la severidad del cuadro clínico. (65) como se observó en este estudio en el que los valores más altos de esta citoquina se encontraron DG, planteando, que concentraciones aumentadas IL 10 podría conducir al freno de la actividad T y mayor gravedad. (58)

La lesión endotelial es la piedra angular en dengue grave, se ha planteado a VEGF como una citoquina capaz de aumentar la permeabilidad vascular a través de sus receptores expresados en células del endotelio, dando como resultado cambios en la morfología micro vascular y fuga plasmática. Se espera que altas concentraciones de VEGF produzcan regulación negativa en la expresión del receptor 2 (VEGFR2). (59,66,67)

Durante la fase inicial de la infección por dengue los niveles VEGFR2 se encuentran altos, hacia el día 0 tienen valor más bajo y vuelven al estado inicial en la fase de convalecencia. El progresivo decremento del VEGFR2 y el aumento del VEGF, se asocian con fuga y choque. (68). El presente estudio muestra una diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de VEGF al comparar DG versus DSSA (50.9 vs 4.5 pg/ml) $p=0.000$ en la fase aguda, así como una disminución estadísticamente significativa de los niveles del VEGFR2 en DG VS DSSA (Me 8542 vs 17469pg/ml) $p=0.000$. Como lo descrito en la literatura. (64, 66,67) Mediante regresión logística se mostró asociación positiva entre el incremento de su concentración y DG ($p<000$).

Encontramos sobreproducción de IL 6 e IL 10 especialmente en los pacientes que fallecieron y alerta sobre el posible papel patogénico de estas en las formas graves de enfermedad y su relación con el pronóstico de muerte, estos resultados sugieren una producción exageradas de estas citoquinas que llevan a síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y desenlace clínico grave. 28, 69, 70,71)

El ST2 pertenece a la super familia de la TLR/IL-1R, (72) es inducido por citoquinas proinflamatorias como TNFa, IL-1b, LPS e IL-6 y se ha demostrado más elevado en el suero de pacientes con dengue hemorrágico (73) y en cultivo de células endoteliales frente a suero de niños con dengue hemorrágico (74). Estudios que se han realizado en diferentes pacientes con procesos inflamatorios, tales como enfermedades autoinmunes, sepsis, asma han mostrado la importancia de ésta

citoquina como alteración en la respuesta Th2, incluso en los últimos años se le ha dado importancia a éste biomarcador para falla cardíaca.

En nuestro estudio se encontró un incremento de ST2 al doble en pacientes con DCSA (437) y de más de 10 veces en niños con DG (1916) al compararlo con DSSA (182) al realizar el análisis multivariado kruskal Wallis $p < 0.000$. La regresión logística mostro asociación positiva entre el incremento de los niveles de ST2 y DG ($p=0.000$). Lo que sugiere la posibilidad de utilizar el ST2 clínicamente como un útil marcador de severidad en dengue. Ampliando el número de pacientes se podrá mejorar el poder predictivo de este marcador.

Las funciones biológicas del TNF α se encuentra ampliamente influenciadas por 2 tipos distintos de receptores (TNFR1 and TNFR2), referidos como receptores tipo – 1(p55op60) y tipo 2(p75 o p80), ambos existen con forma soluble y de membrana, Los valores del receptor soluble 2 se encontraron significativamente elevados en los pacientes con dengue grave respecto a los niños con dengue con signos de alarma ($P=0,02$) como ha sido referido por otros autores como marcador pronostico (71,75,76). La participación del sistema TNF α y su integridad relativa ha sido reportado importante para mejorar la supervivencia y el manejo de la infección por DENV. Debido a que el TNF α tiene una vida media de circulación corta sus niveles en algunos momentos puede no reflejar la producción local en las horas precedentes es probable que esto sucediera en los pacientes de este estudio en la que los valores fueron apenas detectables. (77)

IL-8 se ha reportado aumentado en el DG (71,77), lo cual también fue observado en este análisis, pero no se encontró una repercusión sistémica en los niveles de neutrófilos durante seguimiento de los pacientes.

IL 10 producida por linfocitos T reguladores tiene una actividad dual en la enfermedad, pues niveles moderados podrían ayudar al control de la actividad inflamatoria, pero concentraciones muy aumentadas podría conducir al freno de la actividad T y al aumento de la severidad del pronóstico, dos pacientes que fallecieron tienen los mayores incrementos de esta citoquina, esto fue evidenciado en este estudio donde los valores de la IL-10 de niños que fallecieron fueron los más elevados al comparar con los otros niños.

Llama la atención en nuestro estudio el significativo aumento de los niveles de ésta citoquina en aquellos pacientes que cursaron con hepatitis dengue, teniendo en cuenta que el hígado fue el principal órgano afectado en pacientes con dengue grave se postula como probable marcador predictor para compromiso hepático.

Estudios previos han dado un papel importante de éste marcador en compromiso hepático secundario a la infección por otros agentes virales como es el caso de infección por hepatitis C en la cual se ha encontrado una relación estrecha entre niveles séricos de IL-10 y de AST, teniendo en cuenta que ésta última es un indicador confiable de actividad necroinflamatoria, es razonable argumentar que niveles elevados de IL-10 podría reflejar ésta misma condición.

Mediante regresión logística se pudo demostrar asociación positiva con gravedad en ST2 (p 0,008), VEGFRII (p 0,003) y de IL8 (p 0,006).

Con los hallazgos encontrados en nuestro estudio se confirma la importancia de la respuesta inmunológica en la fisiopatología de la infección por virus dengue asociado a formas graves, especialmente relacionado con las dos principales etiologías en éste grupo de pacientes: choque como reflejo del compromiso a nivel del endotelio y la presencia de fuga vascular y por otro lado el compromiso de órgano principalmente hígado.

Teniendo en cuenta éste importante papel que juega la liberación de todos éstos mediadores inflamatorios en la fisiopatología de la enfermedad surge la necesidad de buscar moléculas en el campo terapéutico que sean capaces de intervenir la respuesta inflamatoria y de ésta manera actuar como inmunomoduladores, son muchas las terapias que han surgido hasta la fecha en búsqueda de éste objetivo, en los últimos años se han postulado medicamentos con mecanismos de acción adicionales a los previamente establecidos convirtiéndose en una herramienta útil en el campo pediátrico luego de haber demostrado la ausencia de efectos adversos posterior a su administración en pacientes con diagnóstico de dengue y en otras patologías que comparten una respuesta inmunológica similar.

Ejemplo de éstas medidas terapéuticas es la Vitamina D que es capaz de modular la producción de TNF α e IL-6 en macrófagos activados y su deficiencia se ha relacionado con activación endotelial, en nuestro estudio se demostró niveles elevados de VEGF y disminuidos de VEGFR2 lo cual confirma el importante papel del endotelio en la patogénesis y permite así plantear la posibilidad del uso de vitamina D como inmunomodulador con ausencia de efectos adversos en la población pediátrica ya demostrados en otros estudios.

Otra medida terapéutica interesante a plantear es el uso de estatinas que ha demostrado ser capaz de mejorar la función celular endotelial, aumentar la producción de óxido nítrico y disminuir la liberación de citoquinas, todo lo anteriormente mencionado susceptible de modificar en pacientes que cursan con

infección por VD. Surge la necesidad al plantear esta medida terapéutica estudios en la población pediátrica en los cuales se demuestre su beneficio.

El uso de terapéutico de moduladores del TNF o de la IL-1b tempranamente podrían afectar el desenlace de la enfermedad, es así como estudios previos han postulado como manejo inmunomodulador a la pentoxifilina en nuestro estudio a pesar de que no se encontró diferencia significativa al medir esta citoquina en los diferentes grupos, esto se pudo haber debido a que la muestra fue pequeña, sin embargo sí se observa una tendencia de encontrar mayores niveles en las formas graves de la enfermedad.

Otro fármaco con efecto que vale la pena seguir estudiando es el uso de corticoides por su demostrada capacidad en inhibir la producción de TNF α e INF φ y la inhibición de IL-1 β , IL-6 e IL-8. Estudios previamente realizados no habían sido concluyentes, sin embargo recientemente se realizó un estudio que evalúa el beneficio de dosis única de metilprednisolona como inmunomodulador como una propuesta interesante a tener en cuenta.

Otro campo de investigación muy interesante es el uso de terapia biológica que sea capaz de frenar la liberación de mediadores inflamatorios. Uno de estas terapias es el Bevacizumab que ha sido empleado con muy buenos resultados en el campo oncológico. El mecanismo de acción de éste fármaco es unirse al VEGF e inhibirlo, en la terapia contra el cáncer éste aspecto es muy útil ya que logra inhibir la angiogénesis del tumor y al mismo tiempo induce la normalización y restauración del endotelio. Además disminuye la permeabilidad vascular del tumor lo cual incrementa el acceso de la quimioterapia al tejido neoplásico. Los potenciales efectos adversos graves incluyen endoftalmitis, desprendimiento de retina, aumento de la presión intraocular y eventos tromboembólicos arteriales. En nuestro estudio se encontró de manera significativa elevación del VEGF en las formas graves con el subsiguiente importante compromiso a nivel del endotelio y fuga vascular, lo cual plantea la posibilidad de evaluar el costo-beneficio en el uso de éstas herramientas que proporcionan las terapias biológicas. (78)

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Boletín epidemiológico 1. 2011.
2. _____. Boletín epidemiológico 45. 2012.
3. HEALTH ORGANIZATION. IMPACT OF DENGUE. Agosto 2007 <http://www.who.int/csr/disease/dengue/impact/en/index.html>
4. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Impact of dengue. Situacion en las Americas. 2009 <http://www.who.int/csr/disease/dengue/impact/en/index.html>
5. Dengue: Diagnosis, treatment, prevention and control. Third Ed. A joint publication of the World Health Organization (WHO) and the Special programme for Reserch and Trainingin Tropical Diseases (TDR), Geneva,2009.
6. COLOMBIA INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Sistema de vigilancia en salud pública.. Enfermedades de notificación obligatoria (dengue 2000-2009). boletín epidemiológico. SIVIGILA-<http://www.INS.gov.co>.
7. Balmaceda A, Hammond SN, Perez L. et al. Serotype specific differences in clinical manifestations of dengue. Am. J. Trop. Med. Hyg., 74(3), 2006, pp. 449-456.
8. Gubler DJ. Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. Trends Microbiol. 2002 Feb;10(2):100-3.
9. Clyde K, Kyle JL, Harris E. Recent advances in deciphering viral and host determinants of dengue virus replication and pathogenesis. J Virol. 2006; 80:11418-31.
10. ROTHMAN, A. Dengue: defining protective versus pathologic immunity. J Clin Invest 2004; 113: 946-51.

11. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S et al. Dengue viremia titer, antibody response pattern and virus serotype correlate with disease severity. *J Infect Dis* 2000; 181: 2 – 9
12. Libraty DH, Endy TP, Houg HS, Green S, Kalayanarooj S, Suntayakorn S, Chansiriwongs W, Vaughn DW, Nisalak A, Ennis FA, Rothman AL. Differing influences of virus burden and immune activation on disease severity in secondary dengue-3 virus infections.. *J Infect Dis*. 2002;185:1213-21
13. Priyadarshini D, Gadia RR, Tripathy A, Gurukumar KR, Bhagat A, Patwardhan S, Mokashi N, Vaidya D, Shah PS, Cecilia D. Clinical findings and pro-inflammatory cytokines in dengue patients in Western india: a facility- based study. *PloS ONE* 2010; 5(1): e8709.
14. Zhihua Kou *et al.* Human antibodies against dengue enhance dengue viral infectivity without suppressing type I interferon secretion in primary human monocytes. doi:10.1016/j.virol.2010.11.007
15. Cindo O. Nicholson, *et al.* Viral entry inhibitors block dengue antibody-dependent enhancement in vitro. doi:10.1016/j.antiviral.2010.11.008.
16. Alegria Levy, *et al.* Increment of interleukin 6, tumour necrosis factor alpha, nitric oxide, C-reactive protein and apoptosis in dengue. doi:10.1016/j.trstmh.2009.06.013
17. Larry C. Borish, John W. Steinke. Cytokines and chemokines. doi:10.1067/mai.2003.108
18. Jamie Whitehorn, Cameron P. Simmons. The pathogenesis of dengue. doi:10.1016/j.vaccine.2011.07.022.
19. Ichiro Kurane. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. doi:10.1016/j.cimid.2007.05.010

20. Cosimo Marcello Bruno, Maria Valenti, et al. Relationship between circulating interleukin-10 and histological features in patients with chronic C hepatitis. *Ann Saudi Med.* 2011doi: 10.4103/0256-4947.83215

21. Peifang Sun, Karolis Bauza, Subhamoy Pal, et al. Infection and activation of human peripheral blood monocytes by dengue viruses through the mechanism of antibody-dependent enhancement. DOI:10.1016/j.virol.2011.08.026

22. Liu P, Woda M, Enis FA, Libraty DH. Dengue virus infection differentially regulates endothelial barrier function over time through type I interferon effects. *J Infect Dis* 2009; 200(2)191-201

23. A. B. Perez *et al.* Tumor necrosis factor- α , transforming growth factor β 1, and interleukin-10 gene polymorphisms: implication in protection or susceptibility to dengue hemorrhagic fever. *Human Immunology* 71 (2010) 1135–1140. doi:10.1016/j.humimm.2010.08.004

24. Anon Srikiatkachorn and Sharone Green. Markers of dengue disease severity. *Curr Top Microbiol Immunol* 2010; 338: 67-82

25. Azizan A, Fitzpatrick K, Signorovitz A, Tanner R, Hernandez H, Stark L, Sweat M. Profile of time-dependent VEGF upregulation in human pulmonary endothelial cells, HPMEC-ST1.6R infected with DENV-1, -2, -3, and -4 viruses. *Virology* 2009; 6: 49.

26. Aniuska Becerra, Rajas V. Warke, et al. Elevated levels of soluble ST2 protein in dengue virus infected patients. . doi: 10.1016/j.cyto.2007.11.001

27. Chuang Y-C *et al.* Macrophage migration inhibitory factor induced by dengue virus infection increases vascular permeability. *Cytokine* (2011), doi:10.1016/j.cyto.2011.01.013.

28. A. B. Perez *et al.* Tumor necrosis factor- α , transforming growth factor β 1, and interleukin-10 gene polymorphisms: implication in protection or susceptibility to dengue hemorrhagic fever. *Human Immunology* 71 (2010) 1135–1140. doi:10.1016/j.humimm.2010.08.004

29. Alma Rosa García-Trejo *et al.* Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphisms in Mexican patients with dengue fever
doi:10.1016/j.actatropica.2011.06.002
30. James F. Kelley , Pakieli H. Kaufusi, *et al.* Maturation of dengue virus nonstructural protein 4B in monocytes enhances production of dengue hemorrhagic fever-associated chemokines and cytokines.
doi:10.1016/j.virol.2011.07.006
31. Gunther VJ, *et al.* A human challenge model for dengue infection reveals a possible protective role for sustained interferon gamma levels during the acute phase of illness. *Vaccine* (2011), doi:10.1016/j.vaccine.2011.03.038
32. FERNANDEZ-MESTRE M.T., K. Gendzekhadze, P. Rivas-Vetencourt, *et al.* TNF-alpha-308A allele, a possible severity risk factor of hemorrhagic manifestation in dengue fever patients. *Tissue Antigens* 2004; 64 :469- 472.
33. U.C. Chaturvedi, R. Agarwal, *et al.* Cytokine cascade in dengue hemorrhagic fever: implications for pathogenesis. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 28 (2000) 183-188.
34. MÉNDEZ A, GONZÁLEZ G. Manifestaciones clínicas inusuales del dengue hemorrágico en niños. *Biomédica* 2006;26:61-70
35. Joseph RE, Coleman PG. Age and Clinical Dengue Illness. *Emerg Infect Dis* 2007;13: 6. www.cdc.gov/eid.
36. Kamath SR, Ranjit S. Clinical features, complications and atypical manifestations of children with severe forms of dengue hemorrhagic fever in south India. *Indian J Pediatr* 2006; 73:889 - 895.
37. De Souza J, Galvão J, Ribeiro RM, Gicovate R . Aminotransferase Changes and Acute Hepatitis in Patients With Dengue Fever: Analysis of 1,585 Cases. *The Brazilian J Infect Dis* 2004;8:156-163

38. Misra UK, Kalita JA, Syam UK, Dhole TN . Neurological manifestations of dengue virus infection. *J NeurolSci*2006; 244: 117 – 122
39. Malavige GN, Ranatunga PK, Jayaratne SD, Wijesiriwardana B, Seneviratne SL, Karunatilaka DL. Dengue viralinfections as a cause of encephalopathy. *Indian J Med Microbiol* 2007;25:143-5
40. Khongphatthanayothin A, Lertsapcharoen P, Supachokchaiwattana P, et al: Myocardial depression in dengue hemorrhagic fever: Prevalence and clinical description. *Pediatr Crit Care Med* 2007; 8:524-529
41. Jayashree M, Dengue shock syndrome: At the heart of the issue. *Pediatr Crit Care Med* 2007 Vol. 8, No. 6.
42. Salgado DM, Eltit JM, Mansfield K et al. Heart and Skeletal Muscle Are Targets of Dengue Virus Infection. *Pediatr Infect Dis J*, 2010; 29:238 – 242
43. Wills B, Van Ngoc T, Nguyen Thi Hong Van, et al. Hemostatic Changes in Vietnamese Children with Mild Dengue Correlate with the Severity of Vascular Leakage Rather than Bleeding. *Am J Trop Med. Hyg.* 2009; 81: 638-644.
44. Chris Fook, Sheng Nga, Lucy Chai See Lumb, Noor Azina Ismail, Lian Huat Tan, Christina Phoay Lay Tan. Clinicians' diagnostic practice of dengue infections. *J Clin Virol* 2007;40: 202-206.
45. Kaushik A, Pineda C and Kest H. Diagnosis and Management of Dengue Fever in Children. *Pediatr. Rev* 2010;31:e28-e35.
46. R. Premaratna, K.M.D.J. Rodrigo, et al. Repeated dengue shock syndrome and 'dengue myocarditis' responding dramatically to a single dose of methyl prednisolone. doi.org/10.1016/j.ijid.2012.02.014
47. Senaka Rajapakse, Chaturaka Rodrigo, et al. Treatment of dengue fever. doi.org/10.2147/IDR.S22613.

48. Dong T. H. Tam, Tran V. Ngoc, et al. Effects of Short-Course Oral Corticosteroid Therapy in Early Dengue Infection in Vietnamese Patients: A Randomized, Placebo- Controlled Trial. DOI: 10.1093/cid/cis655.

49. Senaka Rajapakse. Intravenous immunoglobulins in the treatment of dengue illness. doi:10.1016/j.trstmh.2008.12.011

50. J. E. Z. Castro, I. Vado-Solis, et al. Modulation of Cytokine and Cytokine Receptor/Antagonist by Treatment with Doxycycline and Tetracycline in Patients with Dengue Fever. Clinical and Developmental Immunology. doi:10.1155/2011/370872.

51. Doris Salgado, Tatiana Esther Zabaleta, et col. Use of pentoxifylline in treatment of children with dengue hemorrhagic fever. The Pediatric Infectious Disease Journal . DOI: 10.1097/INF.0b013e3182575e6a

52. Henry Puerta-Guardo, Sergio Isaac De la Cruz Hernández, et al. The 1 α ,25-dihydroxy-vitamin D3 reduces dengue virus infection in human myelomonocyte (U937) and hepatic (Huh-7) cell lines and cytokine production in the infected monocytes. Antiviral Research. doi:10.1016/j.antiviral.2012.02.006

53. Darren Shepherd, Yvonne Belessis, et al. Single high-dose oral vitamin D3 (stoss) therapy — A solution to vitamin D deficiency in children with cystic fibrosis?. Journal of Cystic Fibrosis. doi.org/10.1016/j.jcf.2012.08.007.

54. Pilar Codo-ner-Franch, Sandra Tav_arez-Alonso, et al. Vitamin D Status is Linked to Biomarkers of Oxidative Stress, inflammation, and Endothelial Activation in Obese Children. doi.org/10.1016/j.jpeds.2012.04.046.

55. James Whitehorn, Nguyen Van Vinh Chau, et al. Lovastatin for adult patients with dengue: protocol for a randomised controlled trial. <http://www.trialsjournal.com/content/13/1/203>

56. Vianney Tricou, Nguyet Nguyen Minh, et al. A Randomized Controlled Trial of Chloroquine for the Treatment of Dengue in Vietnamese Adults. doi:10.1371/journal.pntd.0000785

57. Nguyet Minh Nguyen, Chau Nguyen Bich Tran, A Randomized, Double-Blind Placebo Controlled Trial of Balapiravir, a Polymerase Inhibitor, in Adult Dengue Patients. *Journal of Infectious Diseases Advance* DOI: 10.1093/infdis/jis470.
58. Whitehorn J, Simmons CP. The pathogenesis of dengue. *Vaccine*. 2011 Sep 23; 29(42):7221-8.
59. Pawitan J. Dengue virus infection: Predictictiores for severe dengue. *Acta Med Indones J Intern Med*. 2011; 43(2):129-35.
60. Pang T, Cardoza MJ, Guzman MG. Of cascades and perfect storms: immunopathogenesis of dengue haemorrhagic fever dengue shock síndromes. *Immunology and Cell Biology* . 2007; 85, 43-45.
61. Srikiathachorn A, Green S. Markers of dengue disease severity. In *Dengue Virus*,. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2010; 338:67-82.
62. Rothman AL. Immunity to dengue virus: a tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms. *Nat Rev Immunol*. 2011 Jul 15;11(8):532-43.
63. Tang Y, Kou Z, Zhang F, et all. Both viremia and cytokine levels associate with the lack of severe disease in secondary dengue 1 infection among adult Chinese patients. *PLoS One*. 2010 29;5(12):e15631.
64. Rajapakse S. Dengue shock. *J Emerg Trauma Shock*. 2011; 4(1):120-7.
65. Brasier AR, Ju H, Garcia J, Spratt HM. A three component biomarker panel for prediction of dengue hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg*. 2012; 86(2):341-8.
66. Tseng CS, Lo HW, Teng HC, Lo WC, Ker CG.. Elevated levels of plasma VEGF in patients with dengue hemorrhagic fever. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2005 1;43(1):99-102
67. Srikiatkhachorn A, Ajariyakhajorn C, Endy TP, Kalayanarooj S, Libraty DH, Green S, Ennis FA, Rothman AL. Virus-induced decline in soluble vascular

endothelial growth receptor 2 is associated with plasma leakage in dengue hemorrhagic fever. *J Virol.* 2007; 81(4):1592-600.

68. Furuta T, Murao LA, Lan NT. Association of mast cell-derived VEGF and proteases in Dengue shock syndrome. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(2):e1505.

69. Chen LC, Lei HY, Liu CC, Shieh SC. Correlation of serum levels of macrophage migration inhibitory factor with disease severity and clinical outcome in dengue patients. *Am J Trop Med Hyg.* 2006 Jan; 74(1):142-7.

70. Green S, Vaughn DW, Kalayanarooj S, Nimmannitya S, Suntayakorn S, Nisalak A, Rothman AL, Ennis FA. Elevated plasma interleukin-10 levels in acute dengue correlate with disease severity. *J Med Virol.* 1999 Nov; 59(3):329-34.

71. Levy A, Valero N, Espina LM, Añez G, Arias J, Mosquera J. Increment of interleukin 6, tumour necrosis factor alpha, nitric oxide, C-reactive protein and apoptosis in dengue. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2010 Jan;104(1):16-23.

72. Liew FY, Pitman NI, McInnes IB. Disease-associated functions of IL-33: the new kid in the IL-1 family. *Nat Rev Immunol.* 2010; 10(2):103-10.

73. Becerra A, Warke RV, de Bosch N, Rothman AL, Bosch I. Cytokine. Elevated levels of soluble ST2 protein in dengue virus infected patients. 2008 Feb; 41(2):114-20.

74. Houghton-Triviño N, Salgado DM, Rodríguez JA, Bosch I, Castellanos JE. *J Gen Virol.* 2010 Levels of soluble ST2 in serum associated with severity of dengue due to tumour necrosis factor alpha stimulation. Mar; 91: 697-706.

75. Detection of Circulant Tumor Necrosis Factor- α , Soluble Tumor Necrosis Factor p75 and Interferon- γ in Brazilian Patients with Dengue Fever and Dengue Hemorrhagic Fever. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* 2001; 96(2): 229-232.

76. Wang L, Chen RF, Liu JW, Yu HR, Kuo HC, Yang KD. Implications of dynamic changes among tumor necrosis factor- α (TNF- α), membrane TNF

receptor, and soluble TNF receptor levels in regard to the severity of dengue infection. *Am J Trop Med Hyg.* 2007 Aug; 77(2):297-302.

77. Kurane I. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. - *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2007 Sep;30(5-6):329-40. Epub 2007 Jul 23.

78. CAMERON, David. Bevacizumab in the first-line treatment of metastatic breast cancer. *ejc supplements* 6, no. 6 (2008) 21–28

ANEXOS

Anexo A. Consentimiento informado.

Su hijo está invitado a participar en este estudio de investigación debido a los problemas de salud que él está sintiendo actualmente, los cuales indican que puede estar afectado de Dengue o de otras infecciones virales. El objetivo de este estudio es identificar en forma temprana (antes de presentar complicaciones), la infección por el virus Dengue. El dengue es muy común en Colombia, afectando a muchas personas, algunas de ellas se ponen aún más enfermos y desarrollan complicaciones graves, e incluso pueden provocar la muerte, aunque afortunadamente no se presentan en todos los casos.

En el estudio se incluirán niños menores de 14 años con fiebre de causa no aclarada o con probabilidad de tener dengue, del tercer o quinto día de evolución de la enfermedad, se le tomará una muestra de sangre. Usted debe tener en cuenta que el único riesgo que su hijo correrá en este estudio es el dolor (transitorio) y en algunos casos equimosis (morado) en la extremidad puncionada, hechos que de todas formas se pueden presentar en el caso de no aceptar su ingreso a esta investigación, debido a que en su evolución es necesario tomar muestras de sangre para realizar diversos análisis. La sangre recolectada será usada para analizar si su hijo tiene infección por el virus dengue y sus complicaciones.

Los registros médicos serán guardados en forma confidencial. En todos los registros del estudio su hijo será identificado por un número de código y su nombre será conocido solamente por los investigadores.

Si tiene alguna pregunta o si desea alguna aclaración por favor comunicarse con la Dras. Doris Salgado al teléfono 3174386847 y Rocío Vega al teléfono 3158504193 en Neiva.

Por lo anteriormente escrito y por las explicaciones dadas por el investigador que me entrevistó;

Yo, _____ deseo que mi hijo
_____ participe como sujeto en el
proyecto de investigación.

_____ FIRMA DEL ACUDIENTE

_____ NOMBRE DEL TESTIGO

_____ FIRMA DE TESTIGO

FECHA: _____

Consentimiento aprobado en la ESE Hospital Universitario de Neiva, con acta
No. _____ de _____.

Firma del Presidente Comité ética
Hospital Universitario de Neiva

Anexo B. Criterios de inclusión y exclusión.

MARCADORES DE DENGUE GRAVE: IMPORTANCIA Y POSIBLE USO DE INTERVENCIÓN CLÍNICA.

I. DATOS DE IDENTIFICACION

1. Código	<input type="text"/>		
2. Fecha	<input type="text"/>	3. Historia Clínica	<input type="text"/>
4. Nombres	<input type="text"/>	5. Apellidos	<input type="text"/>
6. Edad	<input type="text"/>	7. Procedencia	<input type="text"/>

CRITERIOS DE INCLUSION DENGUE	SI	NO
¿Fiebre ≤ 5 días?		
¿Dos de los síntomas característicos (dolor retro-ocular o cefalea, mialgias, y erupción maculo papular)?		
¿Procedencia de área endémica?		
CRITERIOS DE INCLUSION SEPSIS		
Temperatura >38 °C ó < 36 °C FC > P90 para la edad FR > P90 para la edad Leucocitos > 12000mm ³ ó < 4000/mm ³ ó 10% de bandas(células inmaduras)		
Foco infeccioso		
¿Firma de la hoja de consentimiento?		
Edad > 6 meses < 15 años		
CRITERIOS DE EXCLUSION		
No acepta participar en el estudio		
Imposibilidad del seguimiento		
Enfermedad del colágeno o crónica o neoplásica		
Cardiopatía congénita		

Anexo C. Ingreso al estudio paciente hospitalario día 0.

MARCADORES DE DENGUE GRAVE: IMPORTANCIA Y POSIBLE USO DE INTERVENCIÓN CLÍNICA.

I. DATOS DE IDENTIFICACION

1. Código	<input type="text"/>	<input type="text"/> M.	Sexo	F.	<input type="text"/>	HORA	<input type="text"/>
2. Fecha	<input type="text"/>	3. Historia Clínica	<input type="text"/>				
4. Nombres	<input type="text"/>	5. Apellidos	<input type="text"/>				
6. Edad	<input type="text"/>	7. Procedencia	<input type="text"/>				

II. SINTOMAS

8. Día de fiebre	<input type="text"/>	9. Horas desde la última diuresis	<input type="text"/>
------------------	----------------------	-----------------------------------	----------------------

SINTOMA	SI	NO
10. Fiebre		
11. Secreción u obstrucción nasal		
12. Tos		
13. Disnea		
14. Dolor o ardor en la garganta espontáneo o al pasar alimentos		
15. Vómito		
16. Dolor abdominal		
17. Distensión abdominal		
18. Diarrea		
19. Alteración del estado de conciencia		
20*. Convulsiones		
21. Exantema		
22. Sangrado		

III. EXAMEN FÍSICO (SOLO HALLAZGOS POSITIVOS)

23. Peso	<input type="text"/>	24. Talla	<input type="text"/>	25. T°	<input type="text"/>
26. T.A	<input type="text"/>	27. P. Pulso	<input type="text"/>	28. FR	<input type="text"/>
29. SPO2	<input type="text"/>	30. P. abdomen	<input type="text"/>	31. FC	<input type="text"/>
32. FIO2	<input type="text"/>	33. Hígado cm DRCD	<input type="text"/>		

34. Prueba de torniquete

Positiva

Negativa

SIGNO	SI	NO
35. Edema palpebral		
36. Epistaxis		
37. Gingivorragia		
38. Deshidratación		
39. Soplo cardiaco		
40. Tirajes		
41. Crépitos		
42. Hipoventilación		
43. Ascitis		
44. Dolor a la palpación abdominal		
45. Llenado capilar en segundos		
46. Edema en miembros inferiores		
47. Exantema		
48. Petequias		
49. Hematomas		
50*. Signos de focalización		

51. Pulsos distales Normales Débiles Ausentes

52. Conciencia Alerta Irritable Somnoliento Coma

53*. Glasgow

*Indicación de RMN. En Glasgow si éste es ≤ 11

IV. LABORATORIOS

CUADRO HEMATICO			
Fecha (día/mes/año)	(/ /)	(/ /)	(/ /)
54. Hemoglobina g/dl			
55. Hematocrito %			
56. Eritrocitos recuento			
57. Leucocitos recuento			
58. Linfocitos %			
59. Polimorfonucleares %			
60. Monocitos %			
61. Eosinófilos %			
62. Basófilos %			
63. Plaquetas recuento			

V. ESCALA PRISM

64. Puntaje escala PRISM		Total	
Variable	Intervalos		Puntos
Presión arterial sistólica (mmHg)	< 12 meses	> 12 meses	
	> 160	> 200	6
	130-60	150-200	2
	55-65	65-75	2
	40-54	50-64	6
	< 40	< 50	7
Presión arterial diastólica (mmHg)	<i>Todas las edades</i>		
	> 110		6
Frecuencia Cardíaca	< 12 meses	> 12 meses	
	> 160	> 150	4
	< 90	< 80	4
Frecuencia Respiratoria	< 12 meses	> 12 meses	
	61-90	51-70	1
	> 90	> 70	5
PaO ₂ /FiO ₂ *	<i>Todas las edades</i>		
	200-300		2
	< 200		3
PaCO ₂ (mmHg)**	<i>Todas las edades</i>		
	51-65		1
	> 65		5
Puntaje en la escala de Glasgow***	<i>Todas las edades</i>		
	< 8		6
Reacciones Pupilares	<i>Todas las edades</i>		
	Anisocoria o dilatadas con respuesta		4
	Fijas y dilatadas		10
TP/TPT	<i>Todas las edades</i>		
	> 1,5 X Control		2
Bilirrubina Total (mg/dl)	> 1 mes		
	> 3,5 mg%		6
Potasio en Sangre (mEq/l)	<i>Todas las edades</i>		
	< 3		5
	3-3,5		1
	6,5 - 7,5		1
	> 7,5		5
Calcio en Sangre (mg/l)	<i>Todas las edades</i>		
	< 7		6
	7,0-8,0		2
	12,0-15,0		2
	> 15		6
Glucosa en Sangre (mg/l)	<i>Todas las edades</i>		
	< 40		8
	40-60		4
	250-400		4
	> 400		8

Bicarbonato (mEq/l)	<i>Todas las edades</i>	
	< 16	3
	> 32	3
* No valorable con cortocircuitos intracardiacos o insuficiencia respiratoria crónica. Requiere muestra arterial. ** Puede ser valorado por gasometría capilar. *** Valorable sólo si se conoce daño o disfunción del SNC. No valorable en pacientes bajo sedación, parálisis, etc.		
r = (0,207xPRISM) - (0,005xEdad)-(0,433xEstado operatorio) - 4.782.		
Riesgo de Mortalidad = exp.(r)/[1+exp.(r)]		

VI. DIAGNÓSTICO

Sepsis
 Choque séptico
 Dengue con signos de alarma
 Dengue severo

VII. TRATAMIENTO RECIBIDO

65. Líquidos _____ volumen _____
 66. Antipiréticos _____
 67. Oxígeno _____
 68. Inotrópicos _____
 69. Hemoderivados _____
 70. Antibiótico _____
 71. Otros _____

VIII. DESTINO

Observación
 Infectología
 UCI pediátrica

DILIGENCIADO POR: _____

Anexo D. Formulario control hospitalario día 1.

MARCADORES DE DENGUE GRAVE: IMPORTANCIA Y POSIBLE USO DE INTERVENCIÓN CLÍNICA.

I. DATOS DE IDENTIFICACION

1. Código
2. Fecha
3. Día de la enfermedad:
4. Diagnóstico:

II. SINTOMAS

SINTOMA	SI	NO	
5. Fiebre			
6. Disnea			
7. Vómito			
8. Dolor abdominal			
9. Distensión abdominal			
10. Diarrea			
11. Alteración del estado de conciencia			
12. *Convulsiones			
13. Exantema			
14. Sangrado	SI	NO	Dónde:

III. EXAMEN FÍSICO (SOLO HALLAZGOS POSITIVOS)

15. Peso	<input type="text"/>	16. P. Pulso	<input type="text"/>	17. T°	<input type="text"/>
18. TA	<input type="text"/>	19. FC	<input type="text"/>	20. FR	<input type="text"/>
21. SO2	<input type="text"/>	22. P. abdomen	<input type="text"/>	23. Hígado cm DRCD	<input type="text"/>
24. FIO2	<input type="text"/>	25. GU	<input type="text"/>		

SIGNO	SI	NO
26. Edema palpebral		
27. Epistaxis		
28. Gingivorragia		
29. Soplo cardiaco		
30. Tirajes		
31. Crépitos		
32. Hipoventilación		
33. Ascitis		
34. Dolor a la palpación abdominal		
35. Llenado capilar en segundos		
36. Edema en miembros inferiores		
37. Exantema		
38. Petequias		
39. Hematomas		
40. *Signos de focalización		

41. Pulsos distales Normales Débiles Ausentes

42. Conciencia Alerta Irritable Somnoliento Coma

43. *Glasgow

*Indicación de RMN En Glasgow ≤ 11

IV. TRATAMIENTO RECIBIDO

- 44. Líquidos _____ volumen _____
- 45. Antipiréticos _____
- 46. Ventilación mecánica _____
- 47. Inotrópicos _____
- 48. Hemoderivados _____
- 49. Antibióticos _____
- 50. Otros _____

DILIGENCIADO POR: _____

Anexo E. Formulario control hospitalario día 2.

MARCADORES DE DENGUE GRAVE: IMPORTANCIA Y POSIBLE USO DE INTERVENCIÓN CLÍNICA.

I. DATOS DE IDENTIFICACION

1. Código
2. Fecha
3. Día de la enfermedad:
4. Diagnóstico:

II. SINTOMAS

SINTOMA	SI	NO
5. Fiebre		
6. Disnea		
7. Vómito		
8. Dolor abdominal		
9. Distensión abdominal		
10. Diarrea		
11. Alteración del estado de conciencia		
12. *Convulsiones		
13. Exantema		
14. Sangrado	SI	NO
Dónde:		

III. EXAMEN FÍSICO (SOLO HALLAZGOS POSITIVOS)

15. Peso	<input type="text"/>	16. P. Pulso	<input type="text"/>	17. T°	<input type="text"/>
18. TA	<input type="text"/>	19. FC	<input type="text"/>	20. FR	<input type="text"/>
21. SO2	<input type="text"/>	22. P. abdomen	<input type="text"/>	23. Hígado cm DRCD	<input type="text"/>
24. FIO2	<input type="text"/>	25. GU	<input type="text"/>		

SIGNO	SI	NO
26. Edema palpebral		
27. Epistaxis		
28. Gingivorragia		
29. Soplo cardiaco		
30. Tirajes		
31. Crépitos		
32. Hipoventilación		
33. Ascitis		
34. Dolor a la palpación abdominal		
35. Llenado capilar en segundos		
36. Edema en miembros inferiores		
37. Exantema		
38. Petequias		
39. Hematomas		
40. *Signos de focalización		

41. Pulsos distales Normales Débiles Ausentes

42. Conciencia Alerta Irritable Somnoliento Coma

43. *Glasgow

*Indicación de RMN En Glasgow ≤ 11

IV. TRATAMIENTO RECIBIDO

- 44. Líquidos _____ volumen _____
- 45. Antipiréticos _____
- 46. Ventilación mecánica _____
- 47. Inotrópicos _____
- 48. Hemoderivados _____
- 49. Antibióticos _____
- 50. Otros _____

DILIGENCIADO POR: _____

Anexo F. Resumen de para clínicos hospitalarios.

MARCADORES DE DENGUE GRAVE: IMPORTANCIA Y POSIBLE USO DE INTERVENCIÓN CLÍNICA.

I. DATOS DE IDENTIFICACION

1. Código 2. Fecha

3. Día de enfermedad en el momento de ingreso al estudio.

4. Diagnóstico

II. PARACLINICOS

DIA DE ESTUDIO	0	1	2	14
Fecha (día/mes/año)	(/ /)	(/ /)	(/ /)	(/ /)
CUADRO HEMATICO				
5. Hemoglobina g/dl				
6. Hematocrito %				
7. Eritrocitos recuento				
8. Leucocitos recuento				
9. Linfocitos %				
10. Polimorfonucleares %				
11. Monocitos %				
12. Eosinófilos %				
13. Basófilos %				
14. Plaquetas recuento				
COAGULACION				
15. TP				
16. TPT				
17. Dímero D				
18. Fibrinógeno				

DIA DE ESTUDIO	0	1	2	14
Fecha (día/mes/año)	(/ /)	(/ /)	(/ /)	(/ /)
QUIMICA SANGUINEA				
19. AST				
20. ALT				
21. PCR				
22. CPK-T				
23. CPK-MB				
24. Troponina I				
25. BUN				
26. Creatinina				
27. Proteínas totales				
28. Albúmina				
29. LDH				
30. Glicemia				
DENGUE				
31. IgG Dengue				
32. IgM Dengue				
33. NS1 Dengue				
34. RT-PCR				
INMUNOLOGICOS				
35. TNF				
36. sTNFR				
37. IL 2				
38. Sil 2				
39. VEGF				
40. VEGFR 2				
41. sCD 4				
42. sCD 8				
43. IL 10				
44. ST 2				

III. IMAGENOLOGÍA

45. Rx torax (/ /)

% De efusión pleural

46. Electrocardiograma (/ /)

Arritmia

SI

NO

Frecuencia cardíaca

Eje

Anormalidades del ST

SI

NO

Inversión de la onda T

SI

NO

47. Ecocardiograma

Fracción de eyección

Normal

SI

NO

Disfunción miocárdica izquierda

SI

NO

Disfunción miocárdica derecha

SI

NO

Disquinesia septal

SI

48. RMN cerebral

Normal

SI

NO

Edema cerebral

SI

NO

Sangrado

SI

NO

Colección

SI

NO

Vasculitis

SI

NO

DILIGENCIADO POR _____

Anexo G. Formato cierre de caso.

MARCADORES DE DENGUE GRAVE: IMPORTANCIA Y POSIBLE USO DE INTERVENCIÓN CLÍNICA.

I. DATOS DE IDENTIFICACION

1. Código

2. Fecha

3. Día de la enfermedad:

II. RESUMEN		
4. Días Totales de Hospitalización:		
5. UCIP	SI	NO
6. Días UCIP		
7. Infección Nosocomial	SI	NO
¿Cuál?		
8. Egreso	Vivo	Fallecido

III. DIAGNOSTICO FINAL: _____

DILIGENCIADO POR _____

Anexo H. Visita control día 14.

MARCADORES DE DENGUE GRAVE: IMPORTANCIA Y POSIBLE USO DE INTERVENCIÓN CLÍNICA.

I. DATOS DE IDENTIFICACION

1. Código

2. Fecha

3. Día de la Enfermedad:

4. DX

II. SINTOMAS DESDE LA ÚLTIMA VISITA Y/O EN LAS ÚLTIMAS 24 HORAS

SINTOMA	SI	NO
5. Astenia		
6. Cansancio		
7. Disnea		
8. Diaforesis		

III. HISTORIA MÉDICA DESDE LA ÚLTIMA VISITA

9. Hospitalizado

SI

NO

Sitio

IV. TOMA DE MUESTRA

10. Toma de muestra

SI

NO

Motivo

DILIGENCIADO POR _____

Anexo I. Ingreso al estudio paciente ambulatorio día 0.

MARCADORES DE DENGUE GRAVE: IMPORTANCIA Y POSIBLE USO DE INTERVENCIÓN CLÍNICA.

I. DATOS DE IDENTIFICACION

1. Código

2. Fecha

3. Nombres

4. Apellidos

5. Día de fiebre:

6. Diagnóstico:

7. Teléfono

8. Procedencia

9. Sexo M. F.

10. Hora de última diuresis

II. SINTOMAS

SINTOMA	SI	NO
11. Fiebre		
12. Secreción u obstrucción nasal		
13. Tos		
14. Disnea		
15. Dolor o ardor en la garganta espontáneo o al pasar alimentos		
16. Vómito		
17. Dolor abdominal		
18. Distensión abdominal		
19. Diarrea		
20. Alteración del estado de consciencia		
21. Convulsiones		

22. Color rojo en la piel (exantema)		
23. Sangrado		

III. EXAMEN FÍSICO (SOLO HALLAZGOS POSITIVOS)

24. Peso	<input type="text"/>	25. P. Pulso	<input type="text"/>	26. T°	<input type="text"/>
27. TA	<input type="text"/>	28. FC	<input type="text"/>	29. FR	<input type="text"/>
30. P. abdomen	<input type="text"/>	31. Hígado cm DRCD	<input type="text"/>		

SIGNO	SI	NO
32. Edema palpebral		
33. Epistaxis		
34. Gingivorragia		
35. Deshidratación		
36. Soplo cardíaco		
37. Tirajes		
38. Crépitos		
39. Hipoventilación		
40. Ascitis		
41. Dolor a la palpación abdominal		
42. Llenado capilar en segundos		
43. Edema		
44. Exantema		
45. Petequias		
46. Hematomas		
47. Signos de focalización		

48. Pulsos distales Normales Débiles Ausentes

49. Conciencia Alerta Irritable Somnoliento Coma

50. Glasgow

IV. IMPRESIÓN DIAGNÓSTICA

V. TRATAMIENTO RECIBIDO

51. Líquidos	_____	Volumen	_____
52. Antipiréticos	_____		
53. Antibióticos	_____		
54. Otros	_____		

VI. DESTINO _____

DILIGENCIADO POR _____

Anexo J. Formulario ambulatorio día 1.

MARCADORES DE DENGUE GRAVE: IMPORTANCIA Y POSIBLE USO DE INTERVENCIÓN CLÍNICA.

I. DATOS DE IDENTIFICACION

1. Código
2. Fecha
3. Día de la enfermedad:
4. Diagnóstico:

II. SINTOMAS

SINTOMA	SI	NO
5. Fiebre		
6. Disnea		
7. Vómito		
8. Dolor abdominal		
9. Distensión abdominal		
10. Diarrea		
11. Alteración del estado de conciencia		
12. Convulsiones		
13. Exantema		
14. Sangrado	SI	NO
Dónde:		

III. EXAMEN FÍSICO (SOLO HALLAZGOS POSITIVOS)

15. Peso	<input type="text"/>	16. P. Pulso	<input type="text"/>	17. T°	<input type="text"/>
18. TA	<input type="text"/>	19. FC	<input type="text"/>	20. FR	<input type="text"/>
21. P. abdomen	<input type="text"/>	22. Hígado cm DRCD	<input type="text"/>	23. Hora última diuresis	<input type="text"/>

SIGNO	SI	NO
24. Edema palpebral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
25. Epistaxis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
26. Gingivorragia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
27. Soplo cardiaco	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
28. Tirajes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
29. Crépitos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
30. Hipoventilación	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
31. Ascitis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
32. Dolor a la palpación abdominal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
33. Llenado capilar en segundos	<input type="checkbox"/>	
34. Edema en miembros inferiores	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
35. Exantema	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
36. Petequias	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
37. Hematomas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
38. Signos de focalización	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

39. Pulsos distales Normales Débiles Ausentes

40. Conciencia Alerta Irritable Somnoliento Coma

41. Glasgow

IV. TRATAMIENTO RECIBIDO

- 42. Líquidos _____ volumen _____
- 43. Antipiréticos _____
- 44. Antibióticos _____
- 45. Otros _____

DILIGENCIADO POR _____

Anexo K. Formulario Ambulatorio día 2.

MARCADORES DE DENGUE GRAVE: IMPORTANCIA Y POSIBLE USO DE INTERVENCIÓN CLÍNICA.

I. DATOS DE IDENTIFICACION

1. Código

2. Fecha

3. Día de la enfermedad:

4. Diagnóstico:

II. SINTOMAS

SINTOMA	SI	NO	
5. Fiebre			
6. Disnea			
7. Vómito			
8. Dolor abdominal			
9. Distensión abdominal			
10. Diarrea			
11. Alteración del estado de conciencia			
12. Convulsiones			
13. Exantema			
14. Sangrado	SI	NO	Dónde:

III. EXAMEN FÍSICO (SOLO HALLAZGOS POSITIVOS)

15. Peso	<input type="text"/>	16. P. Pulso	<input type="text"/>	17. T°	<input type="text"/>
18. TA	<input type="text"/>	19. FC	<input type="text"/>	20. FR	<input type="text"/>
21. P. abdomen	<input type="text"/>	22. Hígado cm DRCD	<input type="text"/>	23. Hora última diuresis	<input type="text"/>

SIGNO	SI	NO
24. Edema palpebral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
25. Epistaxis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
26. Gingivorragia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
27. Soplo cardiaco	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
28. Tirajes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
29. Crépitos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
30. Hipoventilación	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
31. Ascitis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
32. Dolor a la palpación abdominal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
33. Llenado capilar en segundos	<input type="checkbox"/>	
34. Edema en miembros inferiores	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
35. Exantema	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
36. Petequias	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
37. Hematomas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
38. Signos de focalización	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

39. Pulsos distales Normales Débiles Ausentes

40. Conciencia Alerta Irritable Somnoliento Coma

41. Glasgow

IV. TRATAMIENTO RECIBIDO

- 42. Líquidos _____ volumen _____
- 43. Antipiréticos _____
- 44. Antibióticos _____
- 45. Otros _____

DILIGENCIADO POR _____

Anexo L. Resumen de para clínicos ambulatorios.

MARCADORES DE DENGUE GRAVE: IMPORTANCIA Y POSIBLE USO DE INTERVENCIÓN CLÍNICA.

I. DATOS DE IDENTIFICACION

1. Código
2. Fecha
3. Días de enfermedad al iniciar el estudio
4. Diagnóstico

II. PARACLINICOS

DIA DE ESTUDIO	0	1	2	14
Fecha (día/mes/año)	(/ /)	(/ /)	(/ /)	(/ /)
CUADRO HEMATICO				
5. Hemoglobina g/dl				
6. Hematocrito %				
7. Eritrocitos recuento				
8. Leucocitos recuento				
9. Linfocitos %				
10. Polimorfonucleares %				
11. Monocitos %				
12. Eosinófilos %				
13. Basófilos %				
14. Plaquetas recuento				
COAGULACION				
15. TP				

16. TPT				
DIA DE ESTUDIO	0	1	2	14
Fecha (día/mes/año)	(/ /)	(/ /)	(/ /)	(/ /)
DENGUE				
17. IgG Dengue				
18. IgM Dengue				
19. NS1 Dengue				
20. RT-PCR				
INMUNOLOGICOS				
21. TNF				
22. sTNFR				
23. IL 2				
24. Sil 2				
25. VEGF				
26. VEGFR 2				
27. sCD 4				
28. sCD 8				
29. IL 10				
30. ST 2				

DILIGENCIADO POR _____