

Evaluación de la activación plaquetaria durante la infección por el virus del dengue



Alcaldía de Medellín
Cuenta con vos

Berta Nelly Restrepo Jaramillo MD. MSc en Epidemiología
Instituto Colombiano de Medicina Tropical-Universidad CES

Leidy Diana Piedrahita . Microbióloga y Bioanalista, Estudiante de Doctorado en Biología.

Instituto Colombiano de Medicina Tropical-Universidad CES

Katerine Marín, Bacterióloga, estudiante de maestría en epidemiología
Instituto Colombiano de Medicina Tropical-Universidad CES

Carmen Elisa Murillo Hurtado, Bacterióloga
U.P.S Metrosalud Castilla

Hind Hamzeh
GIMAP-EA3064, Université de Lyon, Saint-Etienne, France.

Bruno Pozzetto
GIMAP-EA3064, Université de Lyon, Saint-Etienne, France.

Fabrice Cognasse
GIMAP-EA3064, Université de Lyon, Saint-Etienne, France,
Etablissement Français du Sang Auvergne-Loire, Saint-Etienne, France

Dengue:

Agente etiológico: Virus dengue.

4 serotipos (DENV1-4)

Género *Flavivirus*

Familia: *Flaviviridae*

En Colombia es endémico-epidémico con 85% de su territorio en riesgo de transmisión.

Espectro clínico:

Asintomático

Indiferenciado

Amplio espectro

- Dengue : Con y sin signos de alarma
- Dengue Grave

Dengue Grave:

Extravasación del plasma,
hemoconcentración,
hemorragias y falla orgánica severa.

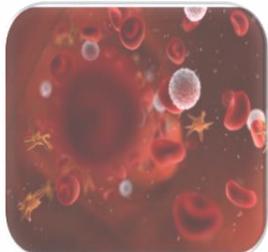
TROMBOCITOPENIA



Desconocido el mecanismo por el cual se producen disfunciones plaquetarias en relación a la infección por el virus Dengue



Células a nucleadas con funciones en la señalización de la inmunidad innata y adaptativa, además de su actividad en la hemostasia y como células inflamatorias.



Cuando son activadas en respuesta al daño, en el sitio de inflamación interactúan con otras células inflamatorias, liberando altas concentraciones de factores pro inflamatorios.

Activación plaquetaria durante la infección por el virus **dengue** poco documentada.

Se han encontrado una correlación entre la **formas severas** de la enfermedad y el nivel de activación.

La evidencia en la literatura científica de la activación de plaquetas durante la infección consistente en la alta expresión de: CD62P, CD63.

CD62(P-selectina):

Relacionado con los síntomas clínicos graves, tales como trombocitopenia, derrame pleural y hemorragia.

CD63: Receptor de fibrinógeno y la serotonina, asociado con la pérdida de plasma en pacientes infectados con dengue.



● **General:**

Determinar la activación plaquetaria en pacientes diagnosticados con dengue

● **Específicos:**

- Caracterizar la población de estudio según edad, sexo, forma clínica del dengue y tipo de infección.
- Determinar el nivel de activación de las plaquetas (expresión de CD62P y CD63) en los pacientes con diagnóstico de dengue comparado con controles.
- Determinar la activación de las plaquetas según la presencia de extravasación plasmática (hemoconcentración, edemas, derrames serosos) y la presencia de hemorragias.
- Determinar la activación de las plaquetas según recuento de plaquetas



Tipo de estudio: Estudio de corte con comparación de grupos. La recolección de la información se hizo en forma prospectiva

Área de estudio: Este estudio se realizó en el Área metropolitana de Medellín.

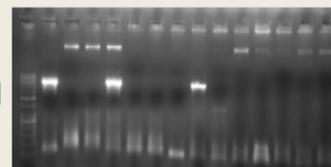
Población de estudio: La población de estudio estuvo compuesta por 20 pacientes con diagnóstico clínico y de laboratorio de infección por dengue de acuerdo a los parámetros establecidos por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2009) y 5 controles voluntarios sanos seleccionados por conveniencia.



Técnicas y procedimientos

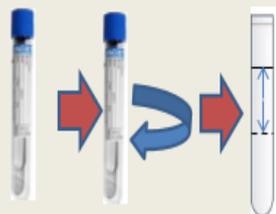
Prueba Rápida NS1, IgM + IgG

RT-PCR



-IMF
-% Expresión

Hemoleucograma Recuento plaquetario y valor de Hematocrito

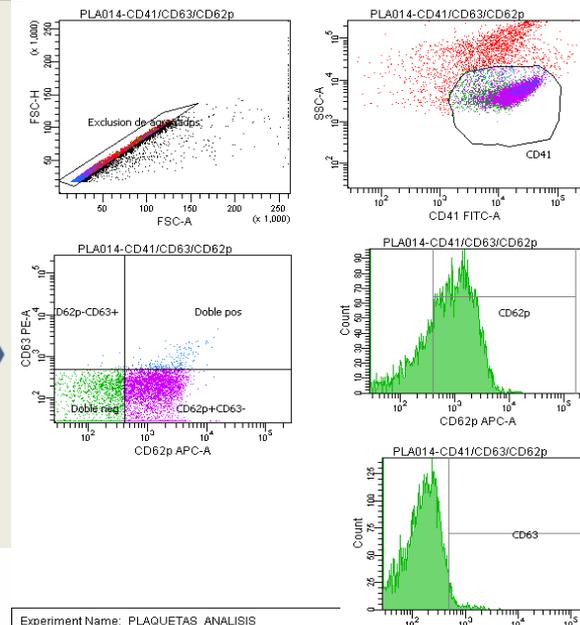


Plasma rico
en plaquetas
(PRP)

Thrombofix
Estabilizador de
plaquetas (Beckman
Coulter) se añadió al
PRP para evitar la
activación de
plaquetas in vitro

La activación
plaquetaria se
evaluó por
citometría de flujo

- CD41FITC
- CD63PE
- CD62p-APC



Plan de análisis

El procesamiento de los datos se realizó en SPSS versión 21 (SPSS, Chicago, IL). Los datos cuantitativos fueron expresados en medias y desviación estándar, mediana y cuartiles de acuerdo a la distribución de los datos. Los datos cualitativos se expresaron como frecuencias absolutas y relativas (porcentajes).

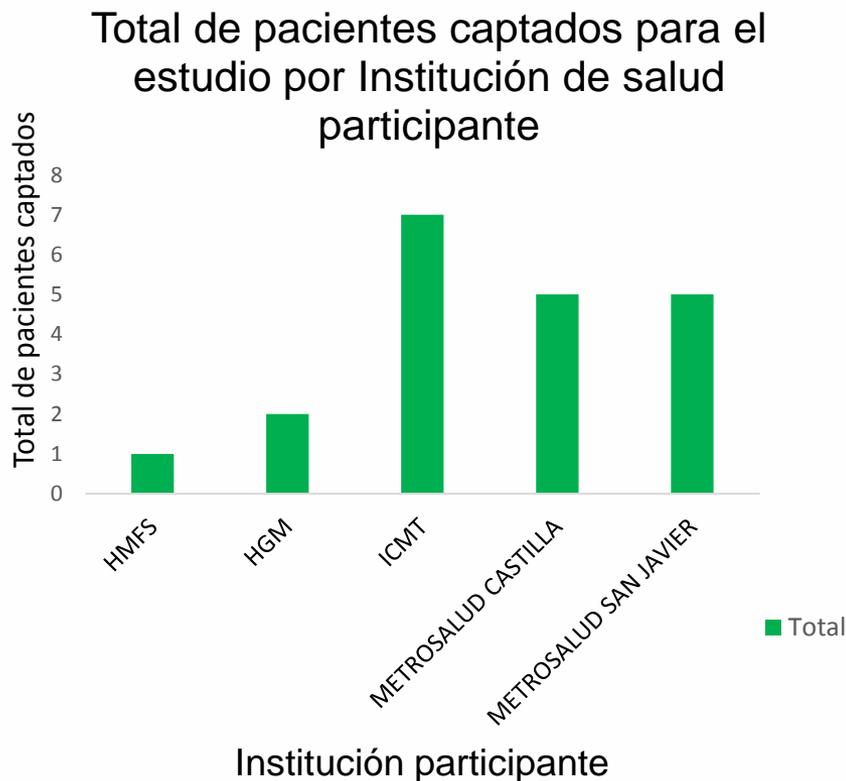
Diferencias en las proporciones entre los grupos de estudio se hizo mediante la prueba de chi cuadrado.

Diferencias entre los grupos en los datos cuantitativos fueron evaluadas usando pruebas no paramétricas de Mann-Whitney.

La prueba de normalidad fue Shapiro Wilk. La significancia estadística fue un valor de $P < 0.05$.



Captación de pacientes al estudio



Características generales de los participantes controles vs casos

Factores socio-demográficos	Controles sanos	Casos de Dengue
	(n=5)	(n=20)
Edad media (rango)	31,6 (20—49)	23,8 (5-45)
Género Femenino % (n)	80% (4)	65% (13)

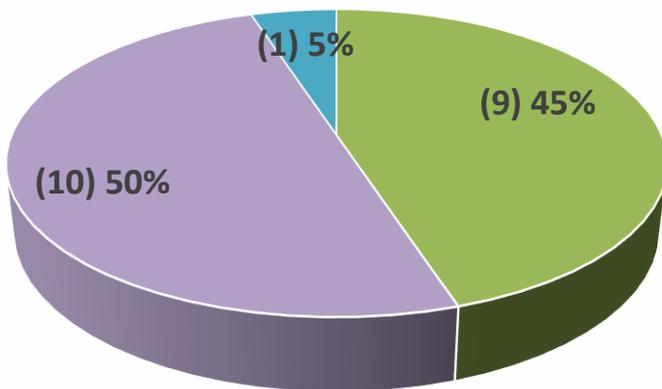
Diagnóstico

Prueba	Total de pacientes
Anticuerpos IgM	14
Antígeno NS1	10 (6 Acs IgM)
RT-PCR	3 (DENV-1, DENV-3)

Días de evolución
de síntomas (1-7).
Promedio de 5

Forma clínica

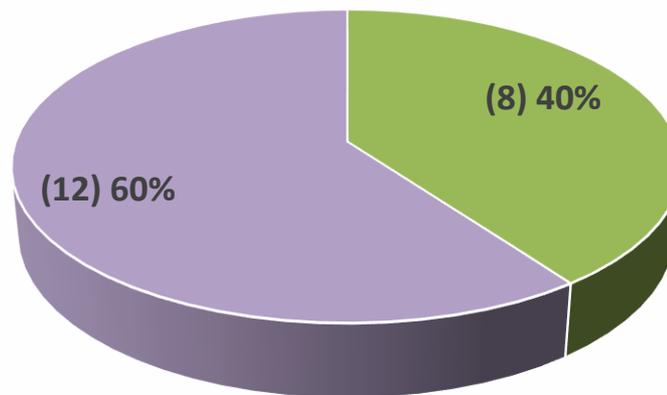
Clasificación según forma clínica de la infección por virus dengue en los pacientes captados para el estudio



- Dengue sin signos de alarma
- Dengue con signos de alarma
- Dengue severo

Tipo de infección

Clasificación según tipo de infección por dengue en pacientes captados para el estudio



- Infección primaria
- Infección secundaria

Características clínicas y de laboratorio

1. Prueba de torniquete Positiva, Epistaxis, gingivorragia, hemorragia G.I, petequias, equimosis.

2. <100.000 cells/uL

3. $\leq 4.0 \times 10^6$ cells/uL

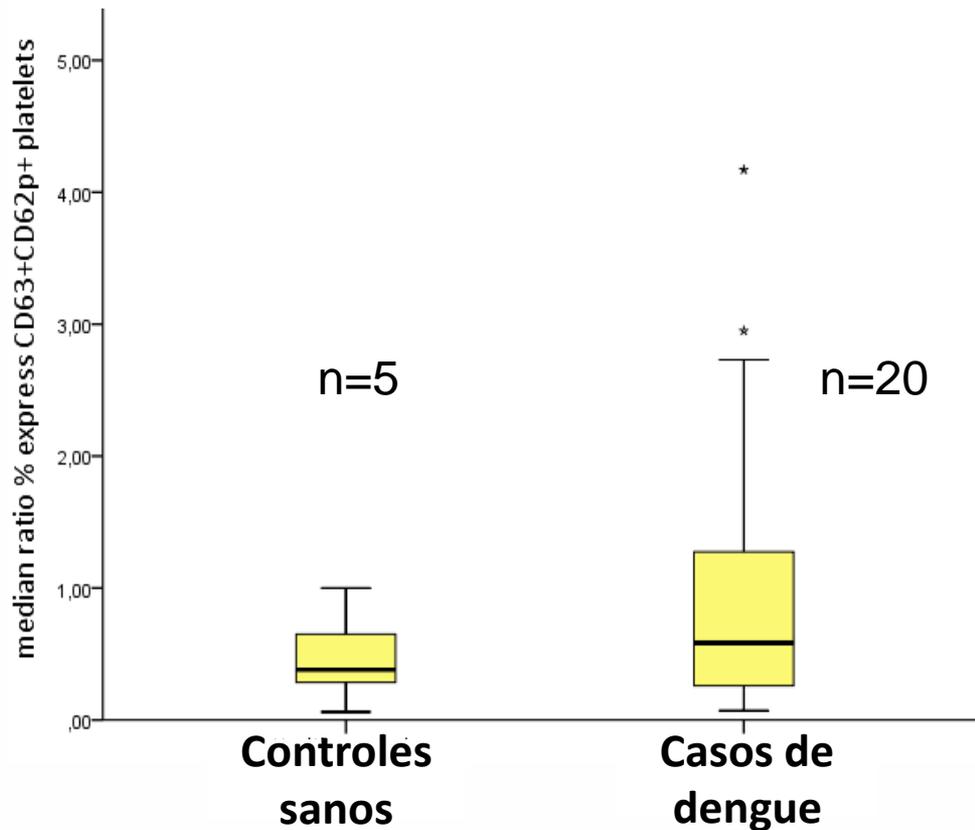
4. Hematocrito >10 %, derrames serosos o choque.

Manifestaciones clínicas	Casos de Dengue
	(n=20)
	n (%)
Astenia	20 (100)
Cefalea	19 (95)
Anorexia	19 (95)
Escalofrío	18 (90)
Mialgia	17 (85)
Artralgia	16 (80)
Mareo	16 (80)
Rash	14 (70)
Hematocrito >10 %	4 (20)
Manifestaciones hemorrágicas ¹	12 (60)
Trombocitopenia ²	9 (45)
Leucopenia ³	10 (50)
Ascitis	1 (5)
Extravasación plasmática ⁴	4 (20)



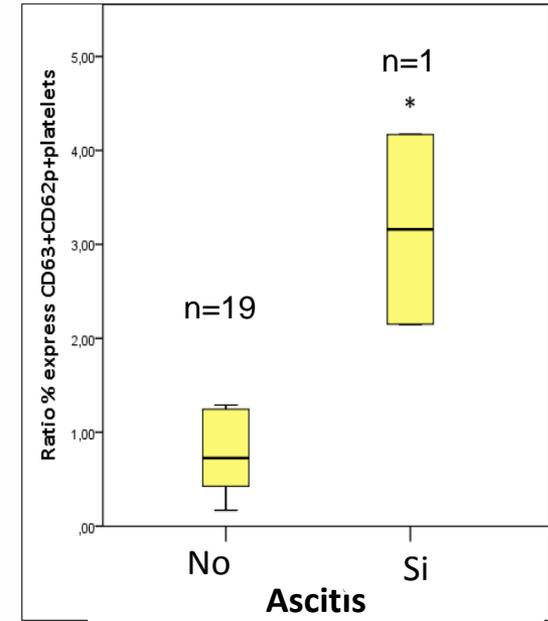
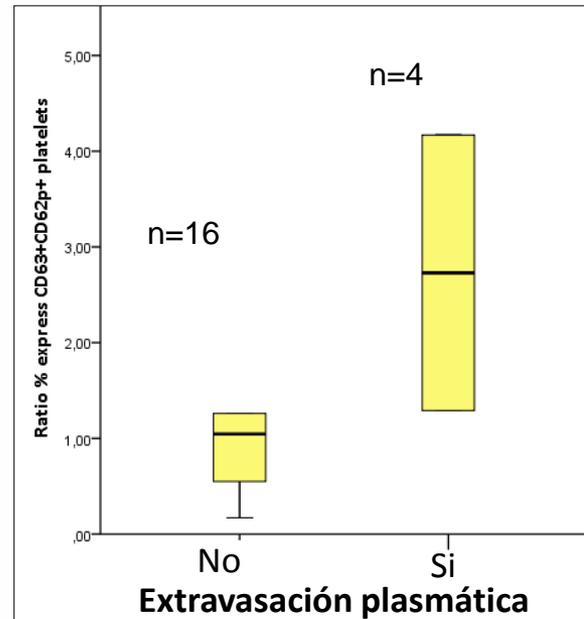
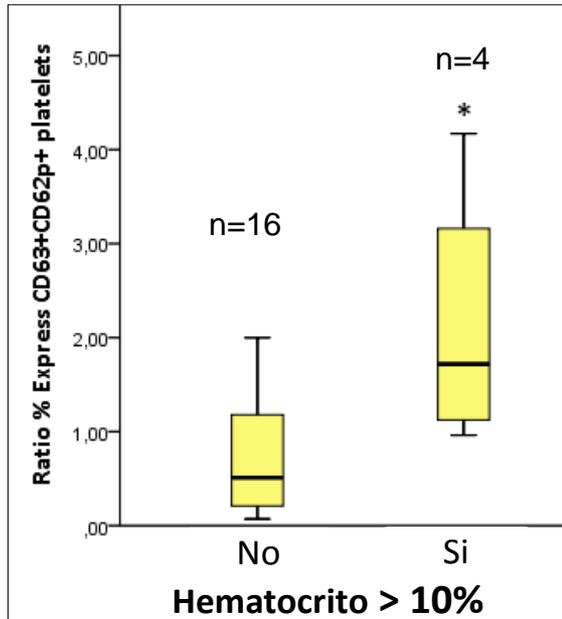
Activación plaquetaria

Incremento de la activación plaquetaria en pacientes con dengue



Nivel de expresión de células **CD63** y **CD62P** positivos > en los casos de dengue que en los controles sanos.

Activación plaquetaria



El % de expresión de células **CD63** y **CD62P** positivos fueron > en los casos con Hto > 10% , con extravasación plasmática y ascitis en comparación con los pacientes con dengue que no tenían estas manifestaciones clínicas.

* $p < 0,05$.

Activación plaquetaria

La mediana de la (IMF) y del % de expresión de **CD63** así como el % de expresión de **CD62P** y de las células doblemente positivas para **CD62P** y **CD63** se observa mas fuertemente :

- En los pacientes con **infección secundaria**.
- En los pacientes **con signos de alarma** y **dengue grave** con los pacientes sin signos de alarma.
- En los pacientes con y sin **trombocitopenia**.

Estas diferencias no fueron significativas.



Estos resultados evidencian que durante la infección por el virus dengue la activación y disfunción plaquetaria puede estar asociada a las manifestaciones más severas de la enfermedad como la extravasación plasmática y la presentación de hemorragias.



Aumentar el tamaño de la muestra con pacientes en diferentes presentaciones clínicas de la infección. Poder encontrar mejores diferencias entre las formas leves y severas,

Otros estudios. Futura evaluación de factores inmunológicos liberados por las plaquetas, que podrían estar asociado a las formas severas de la infección por Dengue.



Gracias



Alcaldía de Medellín
Cuenta con vos