

Evaluación de Marcadores Bioquímicos como Predictores de Dengue Hemorrágico.

Luis Angel Villar-Centeno¹, Fredi Alexander Díaz-Quijano², Ruth Aralí Martínez-Vega².

Introducción: En las formas severas del dengue, se han descrito alteraciones de la concentración sérica de lípidos y proteínas, incluyendo enzimas hepáticas y marcadores de inflamación. Sin embargo, el valor pronóstico de estas alteraciones no ha sido claramente determinado. **Objetivo:** Evaluar algunas alteraciones bioquímicas tempranas en la predicción del Dengue Hemorrágico (DH). **Diseño:** Casos y Controles anidado en una cohorte. **Población:** Pacientes con dengue del área metropolitana de Bucaramanga, Colombia. **Periodo:** Abril/2003 a Enero/2004. **Mediciones:** Al ingreso, entre la hora 48 y 96 de enfermedad, se tomó una muestra de suero que fue almacenada. Los pacientes fueron seguidos hasta el día 8 de enfermedad. Se realizaron pruebas bioquímicas en quienes desarrollaron DH y en cuatro controles por caso, seleccionados al azar. **Resultados:** De 112 pacientes incluidos, 6 desarrollaron DH durante el seguimiento. Las pruebas asociadas con DH fueron: Proteína C Reactiva (PCR) $> 12\text{mg/L}$ ($p=0.002$), Creatinquinasa $>190\text{u/L}$ ($p=0.02$), Aspartato Aminotransferasa $>100\text{u/L}$ ($p=0.03$), Alanino Aminotransferasa $>100\text{u/L}$ ($p=0.03$), colesterol $>150\text{mg/dl}$ ($p=0.04$) y Lipoproteínas de baja densidad $>90\text{mg/dL}$ ($p=0.03$). En un análisis multivariado, la PCR elevada se asocia a DH, independientemente, de las otras alteraciones bioquímicas ($p=0.048$). **Conclusión:** En el presente estudio, la elevación temprana de la PCR se asocia a DH. Otros marcadores séricos como la CPK, transaminasas y lípidos, también podrían ser predictores tempranos de severidad. Estos resultados deben validarse con un mayor número de pacientes. *Salud UIS 2005;37:102-106.*

Palabras Claves: Dengue, Desenlace, Transaminasas, Proteína C Reactiva.

Background: In severe forms of dengue, alterations from lipid profile and serum levels of several proteins including hepatic enzymes and inflammation markers have been described. However, prognostic value of these alterations has not been clearly determined. **Objective:** To evaluate some biochemical alterations in the prediction of the Dengue Hemorrhagic Fever (DHF). **Design:** Nested case control study. Population: Patients with dengue from metropolitan area of Bucaramanga, Colombia. **Period:** April/2003 to January/2004. **Measurements:** At the beginning, between hour 48 and 96 of disease, a serum sample was taken and stored. The patients were followed until eight day of disease. Biochemical tests were made in those who developed DH and in four controls by case, selected at random. **Results:** Of 112 included patients, 6 developed DHF. The following Biochemical tests were associated with DHF: Reactive C Protein (RCP) $>12\text{mg/L}$ ($p=0.002$), Creatine kinase $>190\text{u/L}$ ($p=0.02$), Aspartate Aminotransferases $>100\text{u/L}$ ($p=0.03$), Alanine Transaminase $>100\text{u/L}$ ($p=0.03$), cholesterol $>150\text{mg/dl}$ ($p=0.04$), low density lipoprotein $>90\text{mg/dl}$ ($p=0.03$). In a multivariate analysis, RCP elevation was associated to DHF, independently of the other biochemical alterations ($p=0.048$). **Conclusions:** The early elevation of RCP identifies the patients with greater probability of developing DHF. Other serum biomarkers also could be early predictors of severity. These results must be validated with a greater number of patients. *Salud UIS 2005;37:106.*

Key words: Dengue, Transaminases, Outcome, Reactive C Protein.

INTRODUCCIÓN

El dengue, enfermedad causada por el virus del mismo nombre, es la entidad infecciosa transmitida por mosquitos de mayor incidencia en el mundo¹. Puede

causar desde un síndrome febril benigno conocido como dengue clásico (DC), hasta su forma severa, el dengue hemorrágico (DH), en el que se presenta una tendencia al sangrado y una paulatina extravasación plasmática que genera hipotensión y en algunos casos choque¹.

¹ MD's, Msc. Profesor asociado de la Escuela de la Escuela de Medicina. Universidad Industrial de Santander.

² MD's. Centro de Investigaciones Epidemiológicas. Universidad Industrial de Santander.

Correspondencia: Luis Angel Villar Centeno, Centro de Investigaciones Epidemiológicas, Facultad de Salud UIS, cr. 32 N° 29-31, Bucaramanga, Colombia. Telefax: 6345781. Correo electrónico: lavillar58@hotmail.com

Existe evidencia directa e indirecta sobre alteraciones bioquímicas relacionadas con la severidad del dengue. Por ejemplo, en pacientes con DH se han reportado niveles elevados de las transaminasas, Aspartato Aminotransferasa (AST) y Alanino Aminotransferasa (ALT)²⁻⁷, amilasa sérica⁷⁻⁹, Lactato Deshidrogenasa (LDH)^{7,10,11} y la enzima Creatinquinasa (CK)¹².

En DH también se ha informado elevación de Fosfolipasa A2¹³, un reactante de fase aguda cuya concentración se correlaciona con los niveles de Proteína C Reactiva (PCR)¹⁴. Finalmente, en estudios de corte transversal, se han reportado diferencias en las concentraciones séricas de colesterol y triglicéridos (TG) de pacientes con formas severas de DH^{7,15}.

Pese a lo expuesto, actualmente se desconoce cuales alteraciones bioquímicas podrían identificar tempranamente a los pacientes que evolucionarán hacia DH¹⁶. En consecuencia, es difícil discriminar a aquellos casos agudamente enfermos con mayor riesgo de complicaciones, lo que dificulta la toma de decisiones médicas, resta oportunidad a la atención y acarrea un uso inapropiado de los recursos asistenciales¹⁶. En este estudio se evalúan diferentes marcadores bioquímicos, como indicadores tempranos de severidad en dengue.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño: Estudio de casos y controles anidado en una Cohorte.

Pacientes: Mayores de cinco años con síndrome febril por dengue, de menos de 96 horas de evolución. Se excluyeron los individuos con enfermedades concomitantes como diabetes, SIDA, desórdenes hematológicos, enfermedad cardíaca ó tumoral conocida; y aquellos que al momento del ingreso presentaban complicaciones como DH, sangrado mayor, derrames serosos o choque.

Los pacientes incluidos o sus acudientes, firmaron un consentimiento informado que fue evaluado y aprobado previamente por el Comité de Ética de la Universidad Industrial de Santander.

Captación y seguimiento: Los pacientes fueron captados entre la hora 48 y 96 desde el inicio de la fiebre. La evaluación basal incluyó el registro de signos y síntomas; y la realización de un cuadro hemático que incluyó un recuento de plaquetas. En esta primera visita, se colectó una muestra de suero en todos los pacientes para realizar una prueba de ELISA para IgM específica de dengue, aislamiento viral y para la medición de los marcadores bioquímicos. La muestra de suero fue congelada y almacenada a -70°C hasta la realización de las pruebas. Los pacientes se siguieron hasta el día octavo de enfermedad con medición diaria del hematocrito. El recuento de plaquetas fue repetido diariamente en los

casos con recuentos inferiores a 120000 plaq/mm³ o al presentarse hemorragias espontáneas, signos de derrames serosos, viraje del hematocrito mayor del 10% o edemas. A los pacientes con trombocitopenia (<100000 plaquetas/mm³) y viraje del hematocrito entre el 10 y 20%, se les realizó medición de albúmina y una ecografía abdominal y de bases pulmonares.

Entre el día 8 y 15 desde el inicio de la fiebre, se realizó una segunda prueba de IgM. La infección por dengue se consideró confirmada cuando hubo un aislamiento viral, un cambio de negativo a positivo en las pruebas pareadas de IgM ó un incremento de los títulos de anticuerpos de al menos 4 veces.

Definición de caso: Para el diagnóstico de DH se aplicaron los criterios de la OMS, que lo definen como un síndrome febril con algún recuento de plaquetas inferior a 100000/mm³, alguna manifestación hemorrágica espontánea (o una prueba de torniquete positiva) y evidencia de extravasación plasmática (documentada por la presencia de derrames serosos, viraje del hematocrito mayor o igual al 20%; ó hipoalbuminemia). Los pacientes con infección por virus del dengue que no cumplieron los criterios de DH se consideraron casos de DC.

Selección de casos y controles: En 112 pacientes con dengue seguidos prospectivamente, 6 desarrollaron DH. Las pruebas bioquímicas se realizaron en las muestras almacenadas de todos los casos de DH y en 24 con DC seleccionados al azar (cuatro controles por cada caso).

Medición de marcadores séricos: Las pruebas incluyeron la medición de CK, LDH, AST y ALT con pruebas LiquiUV modificadas, PCR semicuantitativa con prueba rápida de aglutinación en látex, amilasa y albúmina mediante pruebas colorimétricas; y perfil lipídico con pruebas liquicolor. En este último se incluyó colesterol total, lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de alta densidad (HDL) y TG. En las pruebas se utilizaron reactivos de grado analítico de la casa comercial Human.

Análisis de datos: La información se almacenó en una base de datos electrónica (Access 7.0,- Excel MS Office 2000). Los resultados de las pruebas bioquímicas fueron expresados como variables dicotómicas. Para cada marcador se empleó como punto de corte, el valor intermedio entre los promedios de los grupos de DC y DH que mostró la mayor asociación con el desenlace. Las asociaciones entre cada marcador sérico y el desenlace de DH se estimaron mediante pruebas de Chi-cuadrado. Una asociación se consideró estadísticamente significativa, cuando el valor de p fue <0,05. En el

procesamiento de los datos se empleó el programa estadístico STATA 5.0.

RESULTADOS

De un total de 248 pacientes seguidos con SFA, se confirmó la infección por el virus del dengue en 112, de los cuales 6 desarrollaron DH durante el seguimiento (incidencia: 5.36%), uno con grado de severidad I, 2 con grado II y 3 con Grado III (según clasificación de la OMS). La distribución del género en los grupos evaluados fue similar, sin embargo se observó que la edad de los pacientes con DH fue significativamente superior a la de los controles con DC (Tabla 1).

Todos los pacientes con DH y 7 de los 24 con DC, presentaron una PCR mayor o igual a 12 mg/L ($p=0,002$). Otros hallazgos asociados con DH fueron: CK>190 u/L (OR=11,67; $p=0,02$), AST>100 u/L (OR=7,6; $p=0,03$), ALT>100 u/L (OR=11,5; $p=0,03$), colesterol total >150 mg/dL (OR=7; $p=0,04$), LDL>90 mg/dL (OR=11,5; $p=0,03$).

Las pruebas de LDH, HDL, TG, albúmina y amilasa sérica, no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de severidad (Tabla 2). En el análisis multivariado, sólo la PCR mayor o igual a 12 mg/L se **Tabla 1. Género y edad según la severidad del dengue.**

Característica	DH (n=6)		DC (n=24)	
Sexo masculino – No (%)	4	(67)	15	(63)*
Edad (media ± Desv. Estándar)	31,5 ±	11,4	16,8 ±	7,9 †

* $p = 0,85$

† $p = 0,0009$

asocia a DH, independientemente, de las otras alteraciones bioquímicas ($p=0,048$).

DISCUSIÓN

Nuestro estudio respalda la asociación entre el riesgo de desarrollar DH y las alteraciones tempranas de los niveles séricos de AST, ALT, CK, LDL y colesterol total; los

Tabla 2. Concentración sérica de proteína C reactiva, enzimas hepáticas, lípidos y otros componentes durante los primeros días del dengue y su asociación con el desenlace clínico. Bucaramanga, Colombia 2003-2004.

* El valor de p fue estimado por medio de la prueba de Chi cuadrado.

cuales habían sido sugeridos como potenciales predictores de severidad en dengue^{7,15}. Además, como un marcador independiente, la elevación de la PCR podría ser un hallazgo constante en las primeras horas de enfermedad que evoluciona hacia DH, tal y como ocurre en el espectro más severo de varias enfermedades y síndromes infecciosos¹⁷⁻²⁰.

Una mayor elevación de la CK en pacientes con DH comparados con el grupo de DC, ha sido reportada en otros estudios y se ha atribuido a un daño del músculo esquelético cuya intensidad guardaría relación con la severidad del dengue⁷. Las transaminasas también se han correlacionado con la severidad de la enfermedad y la intensidad de su elevación puede considerarse un indicador del daño hepático que frecuentemente genera el DH²⁻⁷. De acuerdo con los presentes resultados, la elevación de estas enzimas es detectable en los primeros días de la enfermedad febril, antes de que se presenten las complicaciones.

La aparente elevación del colesterol total y de las LDL, que aparecieron con más frecuencia en los pacientes con DH, son hallazgos que difieren con los reportados por otros autores^{7,15}. En dengue se ha descrito que conforme incrementa la severidad de la enfermedad, se observa una disminución de estos lípidos^{7,15}. Los autores sugieren que este fenómeno puede ser explicado por la alta susceptibilidad de los lípidos a los efectos tóxicos de radicales libres, cuyo nivel se aumenta en los pacientes con dengue⁷. Estos hallazgos opuestos, generan la necesidad de estudiar el perfil lipídico con un mayor número de pacientes y en diferentes momentos de la enfermedad, a fin de caracterizar el comportamiento del mismo de acuerdo con la severidad del dengue.

Los niveles de albúmina, amilasa y LDH no fueron estadísticamente diferentes al comparar las muestras de pacientes con DC y DH (Tabla 2). Estos últimos marcadores bioquímicos se han asociado con DH⁷⁻¹¹. Sin embargo, es posible que estas alteraciones se presenten tardíamente en el curso de la enfermedad, no siendo hallazgos tempranos útiles para predecir el pronóstico del Dengue. No obstante, debido al escaso número de eventos, es factible que el estudio carezca del poder suficiente para encontrar tales diferencias.

En conclusión, este estudio sugiere que algunas alteraciones bioquímicas detectadas entre las 48 y 96 horas de enfermedad se encuentran asociadas a DH, siendo la elevación de la PCR el marcador pronóstico más notable. Otros marcadores séricos como la CK, transaminasas y lípidos, también podrían ser predictores

tempranos de severidad. La aplicación de estos hallazgos podría ayudar a optimizar los recursos asistenciales y a ofrecer una atención oportuna de los pacientes que consultan tempranamente por Dengue. Sin embargo, estos resultados deben validarse con un mayor número de pacientes.

AGRADECIMIENTOS

En la realización de las pruebas diagnósticas, se contó con la colaboración de la Doctora Raquel Elvira Ocazonez, los bacteriólogos Fabián Cortés y Sergio Gómez del Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales (CINTROP). Igualmente, agradecemos a la bacterióloga Karol Patricia Torres Yepes del Laboratorio Clínico de la Universidad Industrial de Santander, por su colaboración en la realización de las pruebas bioquímicas.

Financiación: Este estudio está anidado en la cohorte de pacientes del proyecto 1102-04-12919, cofinanciado por COLCIENCIAS y la Universidad Industrial de Santander.

REFERENCIAS

1. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Dengue y Dengue Hemorragico en las Americas: Guías para su prevención y control. Washington, D.C. Publicacion Cientifica 548, p 110. 1995.
2. Kalayanarooj S, Vaughn DW, Nimmannitya S, Green S, Suntayakorn S, Kunentrasai N, et al. Early Clinical and Laboratory Indicators of Acute Dengue Illness. *J Infect Dis* 1997; 176: 313-21.
3. Wang LY, Chang WY, Lu SN, Chen TP. Sequential changes of serum transaminase and abdominal sonography in patients with suspected dengue fever. *Kao Hsiung I Hsueh Tsa Chih* 1990; 6: 483-9.
4. Nguyen TL, Nguyen TH, Tieu NT. The impact of dengue hemorrhagic fever on liver function. *Res Virol* 1997; 148: 273-77.
5. Kuo CH, Tai DI, Chang-Chien CS, Lan CK, Chiou SS, Liaw YF. Liver biochemical tests and dengue fever. *Am J Trop Med Hyg* 1992; 47: 265-70.
6. Alvarez ME, Ramirez-Ronda CH. Dengue and hepatic failure. *Am J Med* 1985; 79: 670-4.
7. Ray G, Kumar V, Kapoor AK, Dutta AK, Batra S. Status of antioxidants and other biochemical abnormalities in children with dengue fever. *J Trop Pediatr* 1999; 45: 4-7.
8. Setiawan MW, Samsi TK, Wulur H, Sugianto D, Pool

- TN. Epigastric pain and sonographic assessment of the pancreas in dengue hemorrhagic fever. *J Clin Ultrasound* 1998; 26: 257-9.
9. Jusuf H, Sudjana P, Djumhana A, Abdurachman SA. DHF with complication of acute pancreatitis related hyperglycemia : a case report. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1998; 29: 367-9.
 10. Krippner R, Hanish G, Kretschmer H. Dengue fever with hemorrhagic manifestations after a stay in Thailand. *Dtsch Med Wochenschr* 1990; 115: 858-62.
 11. Gascon J, Giner V, Vidal J, Jou JM, Mas E, Corachan M. Dengue: a re-emerging disease. A clinical and epidemiological study in 57 Spanish travelers. *Med Clin (Barc)* 1998; 111: 583-6.
 12. Malheiros SM, Oliveira AS, Schmidt B, Lima JG, Gabbai AA. Dengue. Muscle biopsy findings in 15 patients. *Arq Neuropsiquiatr* 1993; 15: 159-64.
 13. Nevalainen TJ. Serum phospholipases A₂ in inflammatory diseases. *Clin Chem* 1993; 39: 2453-9.
 14. Nevalainen TJ, Losacker W. Serum phospholipase A₂ in dengue. *J Infect* 1997; 35: 251-2.
 15. van Gorp EC, Suharti C, Mairuhu AT, Dolmans WM, van Der Ven J, Demacker PN, et al. Changes in the plasma lipid profile as a potential predictor of clinical outcome in dengue hemorrhagic fever. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 1150-3.
 16. Monath TP. Early Indicators in Acute Dengue Infection. *Lancet* 1997; 350 : 1719-20.
 17. Olaison L, Hogevik H, Alestig K. Fever, C-Reactive Protein, and Other Acute-Phase Reactants Durin Treatment of Infective Endocarditis. *Arch Intern Med* 1997; 157: 885-92.
 18. Grönroos JM, Kuttala K, Nevalainen TJ. Group II phospholipase A₂ in serum in critically ill surgical patients. *Crit Care Med* 1994; 22: 956-9.
 19. Presterl E, Staudinger T, Pettermann M, Lassnigg A, Burgmann H, Winkler S, et al. Cytokine profile and correlation to the APACHE III and MPM II scores in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 825-32.
 20. Roine I, Ledermann W, Arrizaga N, Bosch P, Bertin L, Urrutia S, et al. C-reactive protein in Measles. *J Trop Pediatr* 1992; 38:149-52.