

## Características clínicas y niveles de citocinas en pacientes con dengue y su relación con la raza. Colombia

Berta Nelly Restrepo<sup>1</sup>, Ruth Ramírez<sup>1</sup>, Piedad Agudelo-Florez<sup>1</sup>, Efrén Avendaño<sup>2</sup>, Juan Camilo Chacón<sup>2</sup>, Winston Rojas<sup>2</sup>, Gabriel Bedoya<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Colombiano de Medicina Tropical-Universidad CES, Sabaneta, Colombia. <sup>2</sup>Laboratorio de Genética Molecular, Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia.

### RESUMEN

**Introducción.** Diferencias en la severidad a la infección por el virus del dengue han sido reportadas entre razas.

**Objetivo.** Comparar las manifestaciones clínicas y los niveles de citocinas entre mestizos y afro descendientes con dengue.

**Materiales y Métodos.** Se realizó un estudio de corte, en el que fueron estudiados 104 mestizos y 122 afro-descendientes con diagnóstico de dengue. Datos de síntomas y de signos clínicos y de laboratorio fueron recopilados en un cuestionario. A los pacientes se les hizo medición de factor de necrosis tumoral-alfa (FNT-alfa), interferon gama (IFN-gama) e interleucina 6 (IL-6) en muestra de suero de la fase aguda de la enfermedad.

**Resultados.** La proporción de casos de dengue hemorrágico fue mayor en mestizos que en afro-descendientes (16,3% vs. 4,1%,  $p = 0,003$ ), y en este grupo un mayor número de pacientes requirió hospitalización (63,5% vs. 23,8%,  $p < 0,000$ ), presentó trombocitopenia (66,7% vs. 47,3%,  $p = 0,012$ ) y edemas en extremidades (15,4% vs. 4,1%,  $p = 0,005$ ). Los niveles séricos de IL-6 e IFN-gama fueron significativamente más elevados en afro descendientes que en mestizos ( $21,08 \pm 58,42$  vs.  $11,80 \pm 51,9$ ,  $p = 0,000$  para IL-6 y  $36,59 \pm 127,63$  vs.  $16,06 \pm 86,18$ ;  $p = 0,008$  para IFN-gama) y semejantes para FNT-alfa ( $4,02 \pm 6,29$  vs.  $4,34 \pm 6,56$ ,  $p = 0,946$ ).

**Conclusiones.** Estos hallazgos muestran diferencias entre razas en relación a la severidad clínica de la enfermedad y a la producción de citocinas, pero es necesario estudiar otros mecanismos inmunológicos y genéticos para explicar estas diferencias.

**Palabras clave:** dengue, raza, clínica, citocinas

### ABSTRACT

**Clinical characteristics and cytokines levels in patients with dengue infection in relation with the race. Colombia**

**Introduction.** Differences in the severity of dengue infection have been reported between races.

**Objective.** To compare the clinical manifestation and cytokine levels between mestizos and afro descents patients with dengue infection.

**Materials and Methods.** A cross sectional study was performed. The study population was 104 mestizos and 122 african descents with diagnosis of dengue infection. Clinical information was recorded in a questionnaire which included symptoms and laboratory data, it was measured in serum of the acute phase the levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), interferon gamma (IFN-gamma) and interleukin 6 (IL-6).

**Results.** The frequency of cases of dengue hemorrhagic fever was higher in mestizos than in African descent (16.3% vs. 4.1%,  $p = 0.003$ ), and in this

**Solicitud de sobretiros:** Berta Nelly Restrepo. Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Universidad CES, carrera 43 A # 52 S 99, Sabaneta, Antioquia, Colombia. Teléfono: (574) 305 35 00 ext: 2293. Correo electrónico: brestrepo@ces.edu.co

**Recibido:** el 18 de octubre de 2010. **Aceptado para publicación:** el 20 de diciembre de 2010

Este artículo está disponible en <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb102133.pdf>

Restrepo *et al.*

group a higher number of patients required hospitalization (63.5% vs. 23.8%,  $p < 0.000$ ), they had higher thrombocytopenia (66.7% vs. 47.3%,  $p = 0.012$ ) and edema in extremities (15.4% vs. 4.1%,  $p = 0.005$ ). Serum levels of IL-6 and IFN-gamma were significantly higher in african descendants than in mestizos ( $21.08 \pm 58.42$  vs.  $11.80 \pm 51.9$ ,  $p = 0.000$  for IL-6 and  $36.59 \pm 127.63$  vs.  $16.06 \pm 86.18$ ,  $p = 0.008$  for IFN-gamma), similar levels of TNF-alpha ( $4.02 \pm 6.29$  vs.  $4.34 \pm 6.56$ ,  $p = 0.946$ )

**Conclusions.** These findings showed differences between races in relation to the clinical manifestation of the infection for dengue virus and level of cytokines, but is necessary to study other immunological and genetics mechanisms of to explain this differences.

**Key words:** Dengue, clinical, cytokines, race

## INTRODUCCIÓN

Dengue es una enfermedad febril producida por cuatro serotipos del virus del dengue (DENV) los cuales son transmitidos de persona a persona por la picadura de mosquitos del género *Aedes*. Es una enfermedad re-emergente distribuida en 112 países tropicales y subtropicales del mundo. En la Región de las Américas en 1995, fueron notificados 335.667 casos y en 2009, esta cifra aumentó en 63% con 917.311 casos (1). Solo Uruguay y Canadá no reportan casos. En Colombia durante el quinquenio 2005-2009 se registraron en promedio 44.268 casos de dengue de los cuales 5.520 son dengue hemorrágico (DH), sin embargo durante los ocho primeros meses de 2010, esta frecuencia aumentó de forma alarmante con 134.231 casos de dengue de los cuales 9.233 son dengue grave. En la actualidad están circulando los cuatro serotipos con predominio de DENV-2 (44%) y DENV-1(41%) (2,3).

La enfermedad tiene diferente espectro clínico. Hay una forma inaparente o subclínica, cuya frecuencia varía entre estudios. Para unos autores es más frecuente que la sintomática (4,5) y para otros es igual (6), posiblemente, como ellos lo

expresan, depende de varios factores, entre ellos el serotipo circulante, el tiempo en que se toma la muestra y la respuesta individual. La otra forma clínica es dengue, caracterizada por fiebre, cefalea, especialmente en el área retroocular, anorexia, mialgias y artralgias, a veces con brote maculopapular, hemorragias, coriza y diarrea (7). Según la nueva clasificación de la Organización Mundial de la Salud, Organización Panamericana de la Salud (OMS/OPS) (8), esta forma clínica puede presentarse con o sin signos de alarma, los cuales son, dolor abdominal intenso, vómitos persistentes, hipotensión, hepatomegalia dolorosa, somnolencia o irritabilidad, disminución brusca de la temperatura, aumento del hematocrito y acumulación de líquidos. Y la última forma es dengue grave en la cual se clasifican a los pacientes que presentan extravasación severa del plasma con síndrome del choque del dengue (SCD), o con dificultad respiratoria, hemorragias severas y daño grave a órganos. Estas formas severas de la enfermedad están caracterizadas por un incremento de la permeabilidad vascular que puede conducir a choque hipovolémico y por alteraciones hemorrágicas (9) producidas por trombocitopenia, fragilidad vascular y compromiso hepático. En la actualidad no existe un tratamiento específico, ni vacuna disponible, por lo que un diagnóstico oportuno, el manejo adecuado de líquidos y la vigilancia de los signos de alarma, permiten una buena evolución.

La patogénesis de las formas severas del dengue ha sido explicada mediante diferentes hipótesis. Una es la del aumento de la infección dependiente de anticuerpos, propiciada por infección secundaria con un serotipo diferente (10,11). En Cuba se encontró que 98% a 99% de los casos de dengue hemorrágico (DH) tenían infección secundaria (12,13). Sin embargo esta hipótesis no explica por sí sola el problema, porque solo el 2%-4% de personas con anticuerpos desarrollan enfermedad severa (14). Otra hipótesis está relacionada con el virus. Se ha descrito que las formas severas del dengue están relacionadas con la virulencia de la cepa (15,16) y con el

serotipo circulante. En Nicaragua DENV-1 se asoció a incremento de la permeabilidad vascular y DENV-2 a choque y hemorragias internas (17). En India DENV-2 se asoció a dolor abdominal, hepatomegalia y elevados niveles de transaminasas (18); también la carga viral mayor (19) y la circulación simultánea de varios serotipos (20), se han encontrado relacionadas a manifestaciones severas. Las características del huésped, son consideradas también determinantes de las formas clínicas de la enfermedad por la diferente susceptibilidad racial a las formas severas del dengue. En Haití, en un estudio en escolares encontraron los siguientes factores de riesgo para DH. El 85% de los niños tenían anticuerpos para dos o más serotipos, la tasa de transmisión anual era 30%, y el serotipo circulante era DENV-2, sin embargo no se reportaron casos de DH (21). En Cuba durante las epidemias de 1981 y 1997 las personas blancas presentaron una frecuencia de DH/SCD significativamente más elevada que los afro descendientes (22-24). En África aunque circulen los cuatro serotipos del dengue y exista el vector no se han reportados epidemias de DH (25). En Salvador, Brasil, se comprobó mediante marcadores de ancestría, que la ascendencia africana era un factor protector para dengue hemorrágico (26). Otras condiciones como el estado nutricional (27) y la presencia de enfermedades crónicas se han visto relacionadas con DH (28).

De otro lado se ha demostrado que la producción de citocinas, como respuesta inmunológica celular a la infección por el virus del dengue, tiene un papel importante en las manifestaciones de la enfermedad (29-35).

En un estudio anterior realizado en Colombia por los mismos autores fueron observadas diferencias en la clínica y en los niveles de citocinas entre afro descendientes y mestizos (36), pero considerando la importancia de la respuesta inmune celular y la diferencia de la severidad de la infección por el virus del dengue entre razas se continuó con el trabajo que aquí se presenta con

el fin de evaluar otro momento epidemiológico en una muestra mayor de pacientes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Diseño del estudio.** De agosto de 2008 a noviembre de 2009 se realizó un estudio de corte, prospectivo en los departamentos de Antioquia y Chocó, Colombia, en el que fueron estudiados 226 pacientes con dengue los cuales fueron captados de instituciones de salud de ambos departamentos. La determinación de la raza fue por autoidentificación. Se incluyeron los pacientes con dengue que cumplieran con los criterios clínicos y de laboratorio contemplados por Organización Panamericana de la Salud (37) y sobre la clasificación de dengue y dengue hemorrágico, se realizaron las comparaciones. Fueron excluidos pacientes con malaria confirmada con gota gruesa.

**Diagnóstico de dengue.** Para el diagnóstico de dengue se tomó una muestra de 5 mL de sangre periférica durante la fase aguda y otra en la fase convaleciente de la enfermedad en tubos estériles sin anticoagulantes. El diagnóstico de dengue se hizo por detección de anticuerpos IgM contra el virus del dengue, mediante un ensayo inmunoenzimático de captura (ELISA) disponible comercialmente (Dengue IgM Capture ELISA (Panbio, Sinnamon Park, Australia) y en algunos pacientes se detectó genoma viral mediante la técnica de RT-PCR acorde a la metodología descrita por Lanciotti y cols, 1992 (38). Los datos sobre los signos y síntomas de los pacientes fueron tomados de las historias clínicas

**Infección secundaria.** Se hizo mediante la detección de anticuerpos IgG contra el virus del dengue, con un ensayo inmunoenzimático de captura (ELISA) disponible comercialmente (Dengue IgM Capture ELISA (Panbio, Sinnamon Park, Australia), en la muestra de la fase aguda.

**Cuantificación de las citocinas.** Los niveles de IL-6, FNT-alfa e IFN-gama, se midieron en la muestra de la fase aguda de la enfermedad mediante estuches comerciales (Quantikine® y Quantikine® HS – High Sensitivity- (R&D Sys-

tems (Minneapolis, MN), los cuales se procesaron siguiendo las instrucciones del fabricante.

**Plan de análisis.** El procesamiento de los datos se hizo en Statistical Package for the Social Sciences, SPSS versión 15 (SPSS, Chicago IL). La comparación de las variables cualitativas fue realizada mediante la prueba de Chi<sup>2</sup>. La comparación de las variables cuantitativas se hizo mediante la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. La significancia estadística aceptada fue un valor de  $p < 0,05$ .

**Consideraciones éticas.** La participación en el estudio fue voluntaria. El proyecto fue aprobado por el Comité de Bioética del Instituto Colombiano de Medicina Tropical-Universidad CES.

## RESULTADOS

**Características de los grupos.** Se estudiaron 226 pacientes. No se encontraron diferencias significativas entre mestizos y afro descendientes por sexo (51,3% mujeres vs, 48,7% hombres), pero si en la edad ( $29,8 \pm 19,2$  años en mestizos vs.  $20,0 \pm 17,5$  años en afro descendientes,  $p < 0,000$ ) (**Cuadro 1**).

El diagnóstico de dengue se hizo por presencia de anticuerpos IgM contra el virus del dengue en 97,8% y por RT-PCR en 5 pacientes (2,2%). Los serotipos identificados fueron el DENV-1 y DENV-2. El 90,3% (204/226) de los pacientes presentó dengue clásico y 9,7% (22/226) dengue hemorrágico. Se observó mayor proporción de casos de DH en los pacientes mestizos que en los afro descendientes (16,3% vs. 4,1%,  $p = 0,003$ ), diferencias estadísticamente significativas (**Cuadro 1**).

**Aspectos clínicos.** fiebre, cefalea, mialgias y artralgias fueron los síntomas generales más frecuentes en todos los pacientes (100%; 89,3%; 79,9% respectivamente), seguido por náuseas y vómitos y dolor retroocular (55,8% y 50,9% respectivamente). Petequias y gingivorragia (28,3% y 11,9%) fueron las manifestaciones hemorrágicas más frecuentes (**Cuadro 2**). La prueba del torniquete fue positiva en 52% (52/100). Metrorragia se

observó en 10,1% de las mujeres (8/79). Síntomas respiratorios como tos, congestión faríngea y dolor de garganta se presentaron en 26,9%, 26,5% y 20,5% de los pacientes.

La comparación por razas mostró diferencias. Mialgias/artralgias, dolor retroocular, náuseas y vómitos y erupción fueron más frecuentes en mestizos, con diferencias estadísticamente significativas. Los síntomas y signos hemorrágicos con excepción de metrorragias y gingivorragias también fueron más frecuentes en pacientes mestizos, con diferencias estadísticamente significativas para petequias, epistaxis y hematemesis. Edemas y anasarca y derrames serosos se reportaron con mayor frecuencia en mestizos, con diferencias estadísticamente significativas entre razas para edemas en extremidades (15,4% vs. 4,1%,  $p = 0,005$ ) (cuadro 2). Una mayor proporción de mestizos requirió hospitalización (63,5% vs. 23,8%,  $P < 0,000$ ) y en este grupo se detectó una frecuencia mayor de trombocitopenia (menos de 100.000 plaquetas/mm<sup>3</sup>), 66,7% (62/93) vs. 47,3% (35/74),  $p = 0,012$ . Un incremento del hematocrito igual o mayor del 20% fue detectado en 10,4% de los pacientes (15/144), 11 de los cuales eran mestizos. Dos pacientes mestizos presentaron diagnóstico de colecistitis acalculosa. Ningún paciente falleció.

De acuerdo a la nueva clasificación de la OMS/OPS (8), se observaron 35% pacientes (79/226) con signos de alarma, 60,2% (136/226) sin signos de alarma y 4,9% (11/226) casos se clasificaron como dengue severo, de los cuales 8 (72,7%) eran pacientes mestizos. De los 79 casos con diagnóstico de dengue con signos de alarma, 55 (69,6%) eran mestizos y 24 (30,4%) afro descendientes,  $p < 0,001$ .

**Infección secundaria.** Ambos grupos étnicos presentaron frecuencias semejantes de infección secundaria. El 57,1% (12/21) de los casos con DH presentaron infección secundaria en contraste con el 37,8% (76/201) de los casos de DC. Diferencias que no fueron estadísticamente significativas.

## Dengue, clínica, citocinas y raza

**Cuadro 1**  
**Descripción de la población de estudio de acuerdo a la raza,**  
**sexo, edad, forma clínica y tipo de infección**

Variables	Mestizos		Afro-descendientes		Valor de p	Total	
	n*	%	n	%		n	%
<b>Sexo</b>							
Masculino	49	44,5	61	55,5	0,690	110	48,7
Femenino	55	47,4	61	52,6		116	51,3
<b>Forma clínica</b>							
Dengue	87	83,7	117	95,9	0,003	204	90,3
Dengue hemorrágico	17	16,3	5	4,1		22	9,7
<b>Tipo de infección</b>							
Infección primaria	62	46,3	72	53,7	0,536	134	60,4
Infección secundaria	41	46,6	47	53,4		88	39,6
Edad ( $\bar{X} \pm DE$ )**	29,8±19,2		20,0±17,5		0,000	24,5±18,8	

\*n = número de casos. \*\*  $X \pm DE$  : media  $\pm$  desviación estándar

**Cuadro 2**  
**Signos y síntomas de dengue según razas**

Signos y síntomas	Total		Mestizos		Afro descendientes		Valor de p
	n	%	n	%	n	%	
Fiebre	226	100	104	100	122	100	-
Cefalea	200	89,3	93	90,3	107	88,4	0,672
Mialgias/artralgias	179	79,9	94	91,3	85	70,2	0,000
Dolor retroocular	114	50,9	63	61,2	51	42,1	0,005
Dolor abdominal	108	48,2	56	54,4	52	43,0	0,108
Náuseas/vómitos	126	55,8	67	64,4	59	48,4	0,016
Hepatomegalia	20	8,9	13	12,5	7	5,8	0,100
Ictericia	12	5,3	9	8,7	3	2,5	0,070
Erupción	63	27,8	52	50,0	11	9,0	0,000
Petequias	64	28,4	54	51,9	10	8,3	0,000
Gingivorragia	27	11,9	11	10,6	16	13,1	0,682
Epistaxis	18	8,0	13	12,5	5	4,1	0,026
Púrpura/equimosis	16	7,1	11	10,6	5	4,1	0,071
Melena	18	8,0	9	8,7	9	7,4	0,808
Hematuria	13	5,8	7	6,8	6	5,0	0,580
Hematemesis	5	2,2	5	4,8	0	0,0	0,020
Edema en extremidades	21	9,3	16	15,4	5	4,1	0,005
Anasarca	7	3,1	6	5,8	1	0,8	0,050
Ascitis	4	1,8	3	2,9	1	0,8	0,335
Derrame pleural	6	2,7	6	5,8	0	0,0	0,009



### Niveles séricos de citocinas según raza y forma clínica

Los niveles séricos de IL-6 e IFN-gama fueron significativamente más elevados en afro descendientes que en mestizos ( $21,08 \pm 58,42$  vs.  $11,80 \pm 51,9$ ,  $p=0,000$  para IL-6 y  $36,59 \pm 127,63$  vs.  $16,06 \pm 86,18$ ;  $p=0,008$  para IFN-gama) y semejantes para FNT-alfa ( $4,02 \pm 6,29$  vs.  $4,34 \pm 6,56$ ,  $p=0,946$ ), (**Cuadro 3**).

Según la forma clínica fueron detectados niveles significativamente más elevados de IL-6 y de IFN-gama en afro descendientes que en mestizos en los casos de DC ( $21,75 \pm 59,65$  vs.  $10,49 \pm 49,96$ ,  $p=0,000$  para IL-6 y  $38,25 \pm 130,31$  vs.  $19,20 \pm 93,99$ ,  $p=0,049$  para IFN-gama) y los niveles de IFN-gama fueron más elevados en los casos de DH en afro descendientes ( $0,44 \pm 0,60$  vs.  $0,00 \pm 0,00$ ,  $p=0,010$ ) (**Cuadro 3**).

Al comparar los niveles de citocinas para cada forma clínica dentro de cada grupo étnico fueron más elevados los niveles de IL-6 en mestizos con DH con respecto a DC ( $19,05 \pm 62,67$  vs.  $10,49 \pm 49,96$ ,  $p=0,156$ ) y de FNT-alfa en afro descendientes con DH comparado con DC ( $6,78 \pm 8,46$  vs.  $3,90 \pm 6,20$ ,  $p=0,364$ ). INF-gama tuvo niveles más elevados en los casos de DC que en DH en ambas razas. Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (**Cuadro 3**).

### Niveles de citocinas según infección secundaria y raza

Acorde a la raza se observó que los niveles séricos de IL-6 fueron más elevados en afro descendientes con infección primaria y secundaria que en mestizos, aunque fueron significativas estas diferencias solo para infección primaria ( $23,46 \pm 55,16$  vs.  $15,31 \pm 60,01$ ,  $p=0,002$ ). Igual comportamiento se observó para IFN-gama pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (**Cuadro 4**). Al comparar los niveles de citocinas según tipo de infección dentro de cada raza, se observaron niveles más elevados de IL-6 y de IFN-gama en los casos de infección primaria en ambas razas (**Cuadro 4**).

## DISCUSIÓN

Este estudio estableció las diferencias de las formas clínicas, de los signos y síntomas clínicos y de los niveles de las citocinas FNT-alfa, IL-6 e IFN-gama, entre pacientes mestizos y afro descendientes con dengue, procedentes de dos departamentos de Colombia.

Con relación a la forma clínica (37) del dengue se observó mayor frecuencia de casos de DH en los pacientes mestizos ( $16,3\%$  vs.  $4,1\%$ ,  $p=0,003$ ).

Estos resultados coinciden con estudios previos en los cuales los pacientes mestizos presentan formas clínicas de dengue más severas. En Cuba durante la epidemia de 1981, las personas blancas presentaron una frecuencia de DH/SCD significativamente más elevada que los afro descendientes. De 124 niños con diagnóstico serológico de DH,  $86\%$  eran blancos,  $7\%$  negros y  $7\%$  "mulatos" (22,39). Igual situación se detectó durante la epidemia en Santiago de Cuba en 1997, donde el  $46,7\%$  de los casos de DH/SCD se presentaron en personas blancas y  $16\%$  en afro descendientes y de los 12 casos fatales, diez ocurrieron en blancos (23,24,39).

Los principales síntomas de dengue descritos en este estudio, para todos los pacientes, fueron fiebre, mialgia, cefalea y vómito los cuales coinciden con lo reportado por González y cols, 2008 (40) en Santander, Colombia. Las hemorragias más comunes fueron petequias,  $28,4\%$ , lo cual es inferior a lo reportado en los estudios en Santander,  $47\%$  (40), en Neiva,  $35,2\%$  (41) y en Apartadó,  $60\%$  (42), Colombia. En Brasil, la frecuencia de petequias fue semejante a la nuestra  $32,6\%$  (43). Hematuria se observó en  $5,8\%$  de los casos, en contraste con  $31,6\%$  (40). Hemorragias severas como melenas la presentaron  $8,0\%$  de los pacientes, lo cual fue elevado comparado con  $3,7\%$  (40) y bajo con respecto a  $22,2\%$  (43). Hepatomegalia fue detectada en  $8,9\%$ , inferior a  $23,8\%$  (40) y  $81,9\%$  (41) y semejante a un estudio en Puerto Rico  $10,5\%$  (44). Derrame pleural y ascitis se observó  $2,7\%$  y  $1,8\%$  frente a  $4,27\%$  (40) y  $14,6\%$

**Cuadro 3**  
Niveles séricos de citocinas en pacientes con dengue según raza y forma clínica

Citocinas Pg/mL	Forma clínica	Mestizo	Afro descendiente	Mestizo vs. Afro	Mestizo DC vs. DH	Afro DC vs. DH
		$\bar{X} \pm DE$ * n = 98	$\bar{X} \pm DE$ n = 114	Valor de p ****	Valor de p	Valor de p
IL-6	DC**	10,49±49,96	21,75±59,65	0,000	0,156	0,480
	DH***	19,05±62,67	6,62±8,58	0,168		
	Total	11,80±51,9	21,08±58,42	0,000		
FNT-alfa	DC	4,64±6,94	3,90±6,20	0,688	0,454	0,364
	DH	2,81±3,85	6,78±8,46	0,337		
	Total	4,34±6,56	4,02±6,29	0,946		
IFN-gama	DC	19,20±93,99	38,25±130,31	0,049	0,090	0,993
	DH	0,00±0,00	0,44±0,60	0,010		
	Total	16,06±86,18	36,59±127,63	0,008		

\*  $\bar{X} \pm DE$  : media  $\pm$  desviación estándar. \*\*DC: dengue clásico. \*\*\*DH: dengue hemorrágico. \*\*\*\* Prueba de Mann Whitney

**Cuadro 4**  
Niveles séricos de citocinas en pacientes con dengue según tipo de infección y raza

Citocinas pg/mL	Tipo de infección	Mestizo	Afro-descendiente	Mestizo vs. Afro	Mestizo IP** vs. IS***	Afro IP vs. IS
		$\bar{X} \pm DE$ * n = 97	$\bar{X} \pm DE$ n = 112	Valor de p ****	Valor de P	Valor de p
L-6	Primaria	15,31±60,01	23,46±55,16	<b>0,002</b>	0,684	0,071
	Secundaria	7,51±39,50	17,86±64,57	0,122		
FNT-alfa	Primaria	4,47±6,94	3,27±5,22	0,920	0,669	0,586
	Secundaria	4,26±6,13	5,24±7,63	0,962		
IFN-gama	Primaria	23,51±112,0	53,77±160,9	0,078	0,730	0,926
	Secundaria	6,29±23,64	12,44± 43,64	0,061		

\*  $\bar{X} \pm DE$  : media  $\pm$  desviación estándar. \*\*IP: infección primaria de dengue. \*\*\*IS: infección secundaria de dengue. \*\*\*\*Prueba de Mann Whitney

(41). Hemoconcentración también fue bajo 10,4% comparado con 38,6% (40) y 23,8% (41). El dolor abdominal es un signo de severidad (37,45), el cual estuvo presente en 48,2% en pacientes, comparable con el reportado en pacientes no fallecidos en Brasil 50,9% (43) y 44,5% en Santander (40) y bajo con respecto a otros autores, 67,5% (41). En

el presente estudio no se evidenciaron complicaciones, ni muertes, lo cual difiere con otros autores (40-43). Es importante destacar la presencia de edema en extremidades en 9,3% de los casos y anasarca en 3,1%, otros autores han observado la presencia de cualquier edema en 18,6% de los pacientes (40). La discrepancia en la frecuencia

**Restrepo et al.**

de signos y síntomas entre estudios puede ser explicada por el tipo de pacientes, la metodología empleada para la recolección de la información y el nivel de atención.

La comparación entre razas mostró las siguientes diferencias. Signos y síntomas generales como mialgias/artralgias, dolor retroocular, náuseas y vómitos, al igual que síntomas más hemorrágicos como petequias, epistaxis y hematemesis y edemas y derrames serosos fueron significativamente, desde el punto de vista estadístico) más frecuentes en mestizos que en afro descendientes. También en este grupo se requirió con mayor frecuencia hospitalización y más mestizos presentaron trombocitopenia y hemoconcentración. En primer estudio realizado por los mismos autores (36), mostraron resultados semejantes a los del presente estudio, pero las diferencias no fueron significativas, posiblemente porque el tamaño de la muestra fue menor en el primer estudio.

La infección secundaria con un serotipo de dengue diferente se ha encontrado asociada al desarrollo de formas severas (46,47), lo cual está acorde al presente estudio en el cual fue más frecuente la presencia de infección secundaria en los casos de DH que en DC (57,1% vs. 37,8%), comportamiento que se conserva en ambas razas. Este hallazgo es importante porque muestra el papel de la infección secundaria en el desarrollo de DH independiente de la raza.

Las células T de memoria han sido implicadas en la respuesta inmune celular a la infección secundaria por un nuevo serotipo (46,47). Aunque estas células son responsables de la erradicación del virus, también tienen un importante papel en la patogénesis (46), a través de la producción de citocinas y mediadores los cuales actúan sobre el endotelio vascular para producir aumento de la permeabilidad y como consecuencia DH/SCD (48). Algunas de estas citocinas son de tipo Th1, IFN-gama y FNT-alfa (pro inflamatorias) y Th2, IL-6.

IFN-gama es secretada al inicio de la enfermedad y está asociada al incremento de la

permeabilidad vascular y a la activación de monocitos y células dendríticas con lo cual podría producir otros mediadores como FNT-alfa, puede permitir la expresión de receptores Fc. (7,30) y se ha encontrado en niveles más elevados en los casos severos (7,30,31). FNT-alfa puede conducir al aumento de permeabilidad vascular (30,31). IL-6 junto con TNF-alfa están involucrados los procesos de coagulación y fibrinólisis (30), además actúa como pirógeno y puede afectar la permeabilidad del endotelio (7). Estas citocinas se han detectado en niveles elevados en pacientes con dengue (32,33,35-37).

En el presente estudio se observaron niveles séricos de IL-6 e IFN-gama significativamente más elevados en afro descendientes que en mestizos y semejantes para FNT-alfa. Estos resultados son diferentes a los detectados por los mismos autores en otro estudio, en el cual los niveles de IL-6 fueron más elevados en los mestizos, los niveles de FNT-alfa fueron significativamente más elevados en los afro descendientes y los de IFN-gama semejantes (36). Estas diferencias pueden deberse a que en el presente estudio se hizo una sola medición de las citocinas y en el anterior se realizaron mediciones durante cinco días mostrando el promedio de su producción en cada individuo y la cinética en diferentes momentos de la enfermedad. Con respecto a la producción de IFN-gama no coinciden los resultados actuales con los reportados por de la Sierra y cols, 2006 (49) que muestran una mayor producción de IFN-gama en monocitos de pacientes blancos en contraste con pacientes afro descendientes, diferencias que pueden ser explicadas porque estos autores realizaron estudio *in vitro* con mononucleares de sangre periférica.

La comparación de los niveles de citocinas para cada forma clínica dentro de cada grupo étnico mostró niveles más elevados de IL-6 en mestizos con DH con respecto a DC, contrario al comportamiento en afro descendientes. En la literatura los resultados son contradictorios. Unos autores describen más bajos niveles de IL-6 en pacientes con formas severas (36,50) contrario



a los hallazgos de otros (32,33,36,51). FNT-alfa fue lo opuesto a la anterior citocina, es decir los niveles fueron más elevados en afro descendientes con DH, en acuerdo a lo reportado en la literatura (35,52). En el presente estudio los niveles de IFN-gama fueron más elevados en DC para ambas razas, coincidiendo con otros autores (51). Sin embargo hay estudios que describen lo contrario frente a los niveles de FNT-alfa y de IFN-gama (53,7).

En resumen los hallazgos de este estudio establecen diferencias en las formas clínicas de la infección por el virus del dengue entre razas, en los que mestizos presentan mayor severidad y aunque está descrito el papel de las citocinas en la presentación de formas severas, su papel es controversial y de difícil interpretación (51), por lo tanto con relación a los resultados del presente estudio aunque se encontraron diferencias entre razas no es posible afirmar que puede ser explicada por la producción de determinadas citocinas, por lo cual se hace necesario enfocar las diferencias entre razas mediante el estudio de otros mecanismos inmunológicos y genéticos.

**AGRADECIMIENTOS:** Financiación: COLCIENCIAS, código: 325634319263

#### REFERENCIAS

- Organización Panamericana de la Salud.** Organización Mundial de la Salud. [Internet]. [acceso 29 de agosto de 2010]. Número de casos reportados de Dengue y fiebre hemorrágica del Dengue (DHF) en las Américas por país. Disponible en: [http://new.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&task=view&id=719&Itemid=1119;lang=es&lang=es](http://new.paho.org/hq/index.php?option=com_content&task=view&id=719&Itemid=1119;lang=es&lang=es).
- Instituto Nacional de Salud.** Colombia. Boletín No. 29 de Vigilancia Epidemia por Dengue en Colombia. 20 de Agosto de 2010. [Fecha de acceso 23 de agosto de 2010]. Disponible en: [http://new.paho.org/col/index.php?option=com\\_content&task=view&id=810&Itemid=468](http://new.paho.org/col/index.php?option=com_content&task=view&id=810&Itemid=468).
- Instituto Nacional de Salud.** Estadística en Salud Pública. Vigilancia rutinaria. [fecha de acceso en julio 11/2010]. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/?idcategoria=1729>.
- Burke DS, Nisalak A, Johnson DE.** A prospective study of dengue infections in Bangkok. *Am J Trop Med Hyg* 1988; 38:172–80.
- Innis BL.** Dengue and dengue hemorrhagic fever. In: Porterfield JS, ed. *Kass handbook of infectious diseases: exotic virus infections*. London, United Kingdom: Chapman & Hall Medical 1995:103–46.
- Endy TP, Chunsuttiwat S, Nisalak A, Libraty DH, Green S, Rothman AL, et al.** Epidemiology of inapparent and symptomatic acute dengue virus infection: a prospective infection: a prospective study of primary school children in Kamphaeng Phet, Thailand. *Am J Epidemiol* 2002; 156:40–51.
- Malavige GN, Fernando S, Fernando DJ, Seneviratne SL.** Dengue viral infections. *Postgrad Med J* 2004; 80: 588–601.
- Organización Panamericana de la Salud.** Organización Mundial de la Salud. Instituto Nacional de Salud. Guía de Atención Clínica Integral del Paciente con Dengue. Colombia. Bogotá, 2010 [acceso el 24 de septiembre de 2010]. Disponible en: [http://new.paho.org/col/index.php?option=com\\_content&task=view&id=597&Itemid=1](http://new.paho.org/col/index.php?option=com_content&task=view&id=597&Itemid=1).
- Guha-Sapir D, Schimmer B.** Dengue fever: new paradigms for a changing epidemiology. *Emerg Themes Epidemiol* 2005; 2:1-10.
- Halstead SB.** Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. *Science* 1988; 239:476-81.
- Kurane I, Ennis FA.** Immunopathogenesis of dengue virus infections. En: Gubler DJ, Kuno G eds. *Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever*. CAB International 1997: 273-290.
- Guzman MG, Kouri G, Martinez E, Bravo J, Riveron R, Soler M, et al.** Clinical and serologic study of Cuban children with dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS). *Bull Pan Am Health Organ* 1987; 21:270-79.
- Diaz A, Kourí G, Guzmán MG, Lobaina L, Bravo J, Ruiz A, Ramos A, et al.** Description of the clinical picture of dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS) in adults. *Bull Pan Am Health Organ* 1988; 22:133-44.
- Guzman MG, Kouri G.** Dengue: an update. *Lancet Infect Dis* 2002; 2:33–42.
- Rosen L.** The Emperor's new clothes revisited or reflections on the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg*;1997; 26:337-43
- Ricco-Hesse R, Harrison LM, Salas RA, Tovar D, Nisalak A, Ramos C, et al.** Origins of dengue type 2 viruses associated with increased pathogenicity in the Americas. *Virology* 1997; 230:244-51.
- Balmaseda A, Hammond SN, Pérez L, Tellez Y, Saborío SI, Mercado JC, et al.** Serotype-specific differences in clinical manifestations of dengue. *Am J Trop Med Hyg* 2006; 74:449-56.

18. **Kumaria R.** Correlation of disease spectrum among four Dengue serotypes: a five years hospital based study from India. *Braz J Infect Dis* 2010; 14:141-6.
19. **Murgue B, Roche C, Chungue E, and Deparis X.** Prospective study of the duration and magnitude of viraemia in children hospitalized during the 1996–1997 dengue-2 outbreak in French Polynesia. *J. Med. Virol* 2000; 60:432–38.
20. **Suwandono A, Kosasih H, Nurhayati, Kusriastuti R, Harun S, Ma'roef C, et al.** Four dengue virus serotypes found circulating during an outbreak of dengue fever and dengue haemorrhagic fever in Jakarta, Indonesia, during 2004. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2006; 100:855-62.
21. Halstead SB, Streit TG, Lafontant JG, Putvatana R, Russell K, Sun W, Kanesa, Tasan N, Hayes CG, Watts DM. **Haiti: absence of dengue hemorrhagic fever despite hyperendemic dengue virus transmission.** *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65:180-3.
22. Bravo JR, Guzman MG and Kouri G. Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? Individual risk factors for dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS). *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1987; 81:816-20.
23. Valdes L, Guzman MG, Kouri G, Delgado J, Carbonell I, Cabrera MV, Rosario D and Vazquez S. La epidemiología del dengue y el dengue hemorrágico en Santiago de Cuba, 1997. *Rev Panam Salud Publica* 1999; 6:16-25.
24. Guzman MG, Kouri GP, Vazquez S, Rosario D, Bravo JR, Valdez L,. DHF epidemics in Cuba, 1981 and 1987: Some interesting observations. *Dengue Bull WHO* 1999a; 23: 39-43
25. Gubler DJ: Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11:480–96.
26. Blanton RE, Silva LK, Morato VG, Parrado AR, Dias JP, Melo PR, Reis EA, Goddard KA, Nunes MR, Rodrigues SG, Vasconcelos PF, Castro JM, Reis MG, Barreto ML, Teixeira MG. **Genetic ancestry and income are associated with dengue hemorrhagic fever in a highly admixed population.** *Eur J Hum Genet* 2008; 16:762-65.
27. Nguyen TH, Nguyen TL, Lei HY, Lin YS, Le BL, Huang KJ, Lin CF, Do QH, Vu TQ, Lam TM, Yeh TM, Huang JH, Liu CC, Halstead SB. .Association between sex, nutritional status, severity of dengue hemorrhagic fever, and immune status in infants with dengue hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 72:370-4.
28. Figueiredo MA, Rodrigues LC, Barreto ML, Lima JW, Costa MC, Morato V, Blanton R, Vasconcelos PF, Nunes MR, Teixeira MG. Allergies and diabetes as risk factors for dengue hemorrhagic fever: results of a case control study. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4:e699.
29. **Rothman AL.** Immunology and immunopathogenesis of dengue disease. *Adv Virus Res* 2003; 60:397–419.
30. **Bozza FA, Cruz OG, Zagne SM, Azeredo EL, Nogueira RM, Assis EF, et al.** Multiplex cytokine profile from Dengue patients: MIP-1beta and IFN-gamma as predictive factors for severity. *BMC Infect Dis* 2008; 8:86.
31. **Hober D, Poli L, Roblin B, Gestas P, Chungue E, Granic G, et al.** Serum levels of tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha), interleukin-6 (IL-6), and interleukin-1beta (IL-1beta) in dengue-infected patients. *Am J Trop Med Hyg* 1993; 48:324-31.
32. **Jufrie M, Meer GM, Hack CE, Haasnoot K, Sutaryo, Veerman AJP.** Inflammatory mediators in dengue virus infection in children interleukin-6 and its relation to C-reactive protein and secret phospholipase A2. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65:70-5.
33. **Restrepo BN, Isaza DM, Salazar CL, Ramírez R, Ospina M, Alvarez LG.** Serum levels of interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma in infants with and without dengue. *Rev Soc Bras Med Trop* 2008; 41:6-10.
34. **Braga E, Moura P, Pinto L, Ignacio S, Oliveira MJ, Cordeiro MT, et al.** Detection of Circulant Tumor Necrosis Factor-alfa, Solubel Tumor Necrosis Factor p75 and Interferon.gamma in Brazilian Patients with Dengue Fever and Dengue Hemorrhagic Fever. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96:229-32.
35. **Kuno G, Bailey RE.** Cytokine responses to dengue infection among Puerto Rican patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1994; 89:179-82.
36. **Restrepo BN, Ramirez R, Arboleda M, Alvarez LG, Ospina M, Diaz FJ.** Serum levels of cytokines in two ethnic groups with dengue virus infection. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 79:673-77.
37. **Organización Panamericana de la Salud.** Dengue y Dengue Hemorrágico en las Américas: Guías para su prevención y control. *Publicación Científica No 578.*1995
38. **Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GF, Vorndam V.** Rapid detection and typing of dengue from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992; 30:545-51,
39. **de la C Sierra B, Kourí G, Guzmán MG.** Race: a risk factor for dengue hemorrhagic fever. *Arch Virol* 2007; 152:533-42.
40. **González AL, Martínez RA, Villar LA.** Clinical evolution of dengue in hospitalized patients *Biomedica.* 2008; 28:531-43.
41. **Salgado DM, Rodríguez JA, Garzón M, Cifuentes G, Ibarra M, Vega MR, et al.** Clinical and epidemiologi-

## Dengue, clínica, citocinas y raza

- cal characterisation of dengue haemorrhagic fever in Neiva, Colombia, 2004. *Rev Salud Publica (Bogota)*. 2007; 9:53-63.
42. **Arboleda M, Campuzano M, Restrepo BN, Cartagena G.** The clinical behavior of dengue in patients hospitalized in the Antonio Roldán Betancur Hospital of Apartadó, Antioquia, 2000 *Biomedica*. 2006; 26:286-94.
  43. **Cavalcanti LP, Coelho IC, Vilar DC, Holanda SG, Escóssia KN, Souza-Santos R.** Clinical and epidemiological characterization of dengue hemorrhagic fever cases in northeastern, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010; 43:355-8.
  44. **Rigau-Pérez JG.** Clinical manifestations of dengue hemorrhagic fever in Puerto Rico, 1990-1991. Puerto Rico Association of Epidemiologists. *Rev Panam Salud Publica*. 1997; 1:381-8.
  45. **Convers SM, Villar LA, Martinez RA, Mendez CX, Gomez JA, Rojas EM.** Clínica gastrointestinal y su asociación con la severidad en dengue. *Infectio* 2001; 5:21-30.
  46. **Rothman AI.** Cellular immunology of sequential dengue virus infection and its role in disease pathogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol* 2010; 338:83-98.
  47. **Sierra B, Perez AB, Vogt K, Garcia G, Schmolke K, Aguirre E.** Secondary heterologous dengue infection risk: Disequilibrium between immune regulation and inflammation?. *Cell Immunol* 2010; 262:134-40.
  48. **Fink J, Gu F, Vasudevan SG.** Role of T cells, cytokines and antibody in dengue fever and dengue haemorrhagic fever. *Rev Med Virol*. 2006; 16:263-75.
  49. **De la Sierra B, Garcia G, Perez AB, Morier L, Alvarez M, Kouri G, et al.** Ethnicity and difference in dengue virus- specific memory T cell responses in Cuban individual. 2006 *Viral Immunol*; 19:662-668.
  50. **Bethell D, Flobbe K, Than Phuong CX, Day N, et al.** Pathophysiologic and prognosis role of cytokines in dengue hemorrhagic fever. *J Inf Dis* 1998; 177:778-80.
  51. **Priyadarshini D, Gadia RR, Tripathy A, Gurukumar KR, Bhagat A, Patwardhan S, et al.** Clinical findings and pro-inflammatory cytokines in dengue patients in Western India: a facility-based study. *PLoS One*. 2010; 14:e8709.
  52. **Gagnon SJ, Mori M, Kurane I, Green S, Vaughn DW, Kalayanarooj S, et al.** Cytokine gene expression and protein production in peripheral blood mononuclear cells of children with acute dengue virus infections. *J Med Virol* 2002; 67:41-6.
  53. **Kurane I, Innis BL, Nimmannitya S, Nisalak A, Meager A, et al.** Activation of T lymphocytes in dengue virus infections. High levels of soluble interleukin 2 receptor, soluble CD4, soluble CD8, interleukin 2, and interferon-gamma in sera of children with dengue. *J Clin Invest* 1991; 88:1473-80.