

Biomarcadores para la predicción de la gravedad del dengue

Biomarkers for Dengue Severity Prediction

Cira C. León Ramentol¹, José A Betancourt Bethencourt², Elizabeth Nicolau Pestana³, Kirene Torres Tellez⁴

1. Máster en Enfermedades Infecciosas. Especialista en Medicina General Integral y en Laboratorio Clínico. Asistente. Centro de Inmunología y Productos Biológicos (CENIPBI). Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey. Camagüey. Cuba.

2. Doctor en Medicina Veterinaria. Profesor Auxiliar. Centro de Inmunología y Productos Biológicos (CENIPBI). Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey. Camagüey. Cuba.

3. Máster en Bacteriología-Micología. Licenciada en Biología. Asistente. Centro de Inmunología y Productos Biológicos (CENIPBI). Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey. Camagüey. Cuba.

4. Máster en Gestión Turística. Licenciada en Biología. Instructor. Centro de Inmunología y Productos Biológicos (CENIPBI). Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey. Camagüey. Cuba.

RESUMEN

De las personas que presentan dengue, el 10% evoluciona en los días iniciales hacia complicaciones y no es posible a partir del diagnóstico clínico epidemiológico predecir de manera precisa cuales pacientes van a evolucionar hacia la gravedad. El propósito de este artículo radica en familiarizar a investigadores y estudiantes de la salud con el tema relacionado con los biomarcadores, para integrar equipos de trabajo interdisciplinarios y convertir los resultados de las investigaciones en soluciones a los problemas de salud. Se describen los métodos de laboratorio efectivos para el diagnóstico y predicción clínica, así como el uso de biomarcadores productos de la respuesta inmunológica y que pueden indicar al clínico cual paciente tiene mayores probabilidades de ir a la severidad del dengue.

Palabras clave: biomarcador, dengue, interdisciplinariedad, laboratorio, inmunología.

ABSTRACT

From people who acquire dengue, 10 % of them become seriously ill in the first days; it is not yet possible to make an accurate diagnosis only based on clinical and epidemiological diagnosis and either to predict the severity of future behavior of disease. This article is aimed at familiarize health researchers and students with the use of biomarkers for predicting the severity of dengue to integrate interdisciplinary team for making translational research. The effective laboratory method for diagnosing dengue are described and also the clinical prediction based on different biomarkers,

Keywords: biomarker, dengue, interdisciplinarity, laboratory, immunology.

INTRODUCCIÓN

El dengue, usualmente de presentación esporádica emerge como una de las enfermedades que más afectan a la salud pública, se manifiesta con importantes impactos sociales y económicos dada su actual dispersión, alta morbilidad y significativa mortalidad de los casos severos¹.

En Cuba, se logra baja mortalidad por dengue dado que de manera sistemática los pacientes son hospitalizados y se les administra líquidos intravenosos a los casos de mayor riesgo, lo que minimiza la frecuencia de complicaciones del dengue relacionadas con la disminución de la resistencia vascular por pérdida de la integridad capilar, que conlleva a la extravasación de líquidos².

Guzman y Harris realizan una revisión bibliográfica sobre dengue que abarca varios aspectos de interés de esta enfermedad, tales como, dinámica de transmisión, evolución del virus, diagnóstico, nueva clasificación, respuesta inmune, patogénesis, intervenciones y nuevas tendencias³.

De las personas que presentan dengue, el 10% evoluciona en los días iniciales hacia complicaciones y no es posible a partir del diagnóstico clínico epidemiológico predecir de manera precisa cuales pacientes van a evolucionar hacia la gravedad. Se acepta el papel determinante que en este proceso juega la respuesta inflamatoria ante la infección, en particular, distintas

citocinas cuyos niveles séricos pueden detectarse desde etapas tempranas de la enfermedad, por lo que, en los pacientes con fiebre por dengue, los niveles séricos de algunos biomarcadores pueden facilitar la predicción del curso clínico de la enfermedad⁴.

El propósito de este artículo radica en familiarizar a investigadores y estudiantes de la salud con el tema relacionado con los biomarcadores, para integrar equipos de trabajo interdisciplinarios para convertir los resultados de las investigaciones en soluciones a los problemas de salud, como se realiza actualmente en diversas partes del mundo⁵⁻¹⁰.

DESARROLLO

Las fiebres hemorrágicas se caracterizan por decrecimiento del número de plaquetas, acompañado del aumento de la degradación de los productos del fibrinógeno, el tiempo de protrombina y tiempo de la protrombina parcial. Como promedio al quinto día de comenzar la fiebre se manifiesta una marcada leucopenia y viremia. Otro hallazgo radica en el incremento de la alaninaaminotransferasa (ALAT) y de la aspartatoaminotransferasa (ASAT), enzimas que primariamente se deben al daño hepático. El sangramiento es común en este tipo de enfermedades y se debe a una coagulación intravascular diseminada que afecta los factores de coagulación lo que provoca la extravasación masiva de plasma, hipovolemia y shock, fallos de órganos y muerte¹¹⁻¹⁴.

Con respecto al dengue, para evaluar la función hepática y renal se utiliza el conteo de plaquetas, los niveles de fosfatasa alcalina sérica, urea, creatinina, albúmina, y la concentración de proteínas. En este estudio en particular solo se determinó de valor diagnóstico la albúmina, urea y la creatinina, estos biomarcadores pudieran tener valor predictivo para la severidad del dengue en los estadios tempranos de la enfermedad , pero no para diferenciar el dengue del dengue hemorrágico¹⁵.

En la actualidad el diagnóstico del dengue está dirigido principalmente a la vigilancia epidemiológica y es una necesidad urgente el contar con métodos que permitan un diagnóstico temprano de la enfermedad y en consecuencia, adoptar medidas terapéuticas adecuadas para el tratamiento y control del paciente¹⁶.

La OMS auspicia un estudio internacional llamado DENCO (dengue control), con el objetivo de encontrar una forma mejor de clasificar la enfermedad e identificar los signos de alarma útiles para mejorar el manejo de los casos, con la propuesta de la clasificación binaria de la enfermedad en¹⁷:

- Dengue: con o sin signos de alarma
 - Dengue grave: escape severo de fluidos, hemorragia severa y daño severo de órganos.
- Esta última es la clasificación utilizada actualmente para el manejo de los casos con diagnóstico de dengue.

Criterios de la OMS para el diagnóstico del dengue¹⁷:

1.1 Dengue probable sin signos de alarma: vivir o viajar a zona endémica, fiebre, tener dos o más de las siguientes manifestaciones:

- Náuseas o vómitos.
- Erupción cutánea.
- Dolor intenso o persistente.
- Prueba del torniquete positiva.
- Leucopenia.

1.2 Dengue probable con signos de alarma: manifestaciones anteriores y algunas de las siguientes:

- Dolor o sensibilidad abdominal.
- Vómitos persistentes.
- Acumulación de líquido en el examen físico.
- Sangramiento de las mucosas.
- Letargo o agitación.
- Agrandamiento del hígado > 2 cm.
- Aumento del hematocrito con descenso rápido del conteo de plaquetas.

2.1. Dengue severo (puede desarrollarse incluso sin signos de alarma):

- Pérdida severa de plasma que conduce a shock o acumulación de líquido con distrés respiratorio.
- Hemorragia severa.
- Daño severo a órganos.
- Alaninaaminotransferasa o aspartatoaminotransferasa $\geq 1\ 000$ unidades/L.
- Alteraciones de la conciencia.
- Participación de otros órganos, por ej. el corazón.

2.2. Dengue confirmado en el laboratorio:

- Cultivo viral positivo para dengue.
- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) positiva para ARN de dengue.
- Seroconversión de la inmunoglobulina M en sueros pareados (uno durante la infección aguda y uno después de la recuperación).
- Seroconversión de la inmunoglobulina G (IgG) o cuadruplicación de los títulos de IgG en sueros pareados.

Exámenes de laboratorio utilizados para clasificar pacientes de dengue¹⁸

El hematocrito y el recuento de plaquetas son los exámenes de laboratorio clínico indispensables. El resto de los exámenes complementarios deben realizarse de acuerdo al cuadro clínico del paciente, coagulograma, proteínas totales, albúmina, ionograma, gasometría, urea, creatinina y transaminasas¹⁹.

- Hemograma con diferencial: leucopenia, linfocitosis, monocitosis, hematocrito aumentado, en casos de fiebre hemorrágica de dengue (FHD) este es superior al 20% (hemoconcentración).

- Coagulograma: trombocitopenia (frecuentemente por debajo de $100 \times 10^9/L$ en casos de FHD), en los casos más graves tiempo de protrombina prolongado.
- Hemoquímica: elevación de enzimas hepáticas y de los niveles séricos de urea, hipoalbuminemia.
- Parcial de orina: hematuria y albuminuria

El diagnóstico clínico del dengue tiene baja especificidad, por lo que la confirmación es únicamente de laboratorio, esta es muy importante porque el dengue tiene diferentes formas de presentación que tornan difícil el diagnóstico basado solo en la clínica¹. La prueba más específica para confirmar la infección por virus dengue (VDEN) es el aislamiento viral, pero es complejo, caro, dura de una a dos semanas y necesita de personal especialmente entrenado. También la detección en sangre del genoma del VDEN y antígeno viral NS1 son métodos confirmatorios²⁰.

La detección de NS1 (glicoproteína de 50 kDa de 353 o 354 aminoácidos que no forma parte del virión, pero que se libera de las células infectadas por el dengue) por ELISA o test rápidos tiene una sensibilidad entre 87% y 99% y especificidad entre 82% y 84%, que facilita el diagnóstico precoz del dengue. Pasados los cinco días, la seroconversión de anticuerpos IgM e IgG por hemaglutinación o ELISA permite confirmar el diagnóstico. El aumento de IgM denota una infección reciente y la IgG una infección reciente o antigua²¹. La seroconversión de IgM e IgG anti-VDEN y el aumento de cuatro veces o más de la IgG en el suero son muy usadas para confirmar la infección viral. Sin embargo, los altos niveles de IgM e IgG en una única muestra pueden sugerir la infección aguda por VDEN².

Los anticuerpos IgG antidengue se incrementan lentamente a partir del sexto día del comienzo de los síntomas, son máximos hacia los 15 – 21 días, después declinan y permanecen detectables de por vida. Para el diagnóstico se requieren muestras de sueros pareados (seroconversión o aumento del título de IgG en cuatro veces o más)²².

Durante la fase aguda o fase de viremia (hasta cuatro o cinco días) de la enfermedad puede ser diagnosticado el dengue mediante aislamiento viral, detección del ácido nucleico del virus o del antígeno NS1 en el suero. Al final de la fase aguda de infección, la serología es el método de elección¹⁶.

Se desarrollan muchas pruebas comerciales tipo ELISA (del inglés *enzyme - linked immunosorbent assay*) o ensayo inmunoenzimático sobre fase sólida y también pruebas rápidas que aun están en

fase de evaluación para detectar el antígeno NS1. El MAC-ELISA (del inglés *IgM antibody capture ELISA*) se utiliza generalmente para la detección de la IgM anti-VDEN. Por otro lado, el método de ELISA de inhibición (MEI), que detecta y titula las inmunoglobulinas totales contra el VDEN, permite clasificar el caso de dengue como primario o secundario^{19, 20}.

La técnica de inmunofluorescencia indirecta mediante la utilización de anticuerpos monoclonales específicos de serotipo, permite la identificación del serotipo. La técnica de PCR permite la detección del genoma viral y su identificación en serotipos mediante el uso de suero, tejido, larvas o mosquitos adultos. Además de su utilidad como método de diagnóstico rápido, también es empleado en el estudio genómico de cepas de dengue, lo que permite por medio del análisis mediante enzimas de restricción o secuenciación nucleotídica, la clasificación de las cepas en genotipos¹⁹.

Presencia de biomarcadores relacionadas con las respuestas inmunológicas al dengue

El complejo dengue lo constituyen cuatro serotipos virales serológicamente diferenciables (dengue 1, 2, 3 y 4) que comparten analogías estructurales y patogénicas, por lo que cualquiera puede producir las formas graves de la enfermedad, aunque los serotipos 2 y 3 han estado asociados a la mayor cantidad de casos graves y fallecidos; son virus constituidos por partículas esféricas de 40 a 50 nm de diámetro que constan de las proteínas estructurales de la envoltura (E), membrana (M) y cápside (C), así como un genoma de ácido ribonucleico (ARN). También tienen otras proteínas no estructurales (NS): NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5-3. Los virus del dengue pertenecen al género *Flavivirus* de la familia *Flaviviridae*¹⁵.

El rol del NS1 en la replicación viral es desconocido pero se demuestra que es secretada por las células infectadas (sNS1) y que tiene importante actividad inmunológica¹. Los anticuerpos contra NS1 podrían causar disfunción endotelial por reacción cruzada a las proteínas del huésped y al endotelio. Asimismo, puede ser un modulador en la vía del complemento y proteger al virus de la acción neutralizadora del mismo²³.

Recientemente se ha publicado el hallazgo del virus dengue serotipo 5 (DENV-5) en un paciente de Tailandia que cursa con un cuadro clínico grave. La secuenciación y análisis del genoma completo del virus ubica al nuevo virus en el árbol filogenético en un lado diferente respecto a los otros serotipos; asimismo, las pruebas serológicas confirmaron el hallazgo. Este descubrimiento implica adicionar el DENV-5 a la clasificación de los cuatro serotipos reportados anteriormente (DENV-1, 2, 3, 4) además, de complicar todavía más la difícil situación clínico epidemiológica del dengue a nivel mundial²⁴.

Los serotipos del VDEN son antigénicamente distintos y presentan características genéticas diferentes, el hecho de que solo una pequeña proporción de individuos con infección secundaria por VDEN presentan una enfermedad grave demuestra que otros factores no virales están relacionados al curso clínico de la infección. Estos factores son edad, género, susceptibilidad genética, comorbilidad y la respuesta inmune²⁰.

A pesar de que la fisiopatología del dengue no está completamente esclarecida, se acepta que es multifactorial. En esta compleja interacción multifactorial participan factores del virus y del hospedero que pueden conducir al dengue grave y hasta la muerte^{17,18}.

Estudios clínico-epidemiológicos y de factores de riesgo demuestran que las enfermedades crónicas y otras condiciones concomitantes como el embarazo, el primer año de vida y tener 60 años o más de edad, se asocian a mayor gravedad de la enfermedad por dengue. La diabetes mellitus, el asma bronquial, las hepatopatías crónicas, la insuficiencia renal crónica, la obesidad y las anemias hemolíticas, en particular la drepanocitosis, constituyen un grupo de problemas clínicos que, además, de estar relacionados con mayor gravedad complican considerablemente el tratamiento clínico de los enfermos. Por tanto, los pacientes febriles con sospecha de dengue y alguna comorbilidad o condiciones concomitantes deben ser evaluados de forma individual, se recomienda su ingreso y seguimiento especializado desde el inicio de la enfermedad febril para evitar complicaciones².

El principal órgano blanco del dengue es el endotelio vascular y los elementos formes de la sangre. El daño funcional, no morfológico, de estas células se debe a la propia replicación viral intracelular y como consecuencia de la gran liberación de citocinas, producen un aumento de la permeabilidad capilar con fuga plasmática al intersticio de todos los órganos. Otros mecanismos del daño celular incluyen a los inmunocomplejos, efecto de los linfocitos T, reacción cruzada entre los anticuerpos circulantes y el endotelio vascular, aumento de los anticuerpos y complemento, mediadores solubles como las citocinas, cepas extremadamente virulentas, pero el más reconocido es la gran liberación de anticuerpos y citocinas o citoquinas cuando ocurre una segunda infección generando lo que se conoce como "tsunami de citoquinas". Característicamente, las manifestaciones clínicas de las complicaciones se inician a partir del tercer día de enfermedad, cuando la fiebre cede y la viremia se halla en descenso, pero coincide con el aumento de las defensas inmunes del cuerpo²⁵.

Los mastocitos, células implicadas en reacciones alérgicas e infecciones parasitarias, son objeto de atención de aquellos que estudian la infección por dengue. Durante años se especula sobre el

posible papel de esas células en la patogenia de esta virosis. A favor de ello se observan niveles elevados de histamina, un mediador soluble de estas células, en la orina de pacientes de cuadros severos de dengue. Sin embargo, el papel preciso de los mastocitos en relación con la patogenia del dengue no está bien explorado aún^{26, 27}.

Los mastocitos están involucrados tanto en la inmunidad innata como en las fases de iniciación y efectora de la inmunidad adaptativa. Recientemente, se constata que pueden inducir la secreción de interferón alfa (IFN- α) así como, otras quimoquinas. Su participación en la fase efectora de la inmunidad adaptativa se asocia principalmente a las señales inducidas por los receptores Fc que están en su superficie, porque a través de estos se activan respuestas celulares como endocitosis, fagocitosis de complejos particulados, exocitosis de aminas vasoactivas, enzimas proteolíticas y moléculas citotóxicas, así como, mediadores proinflamatorios de derivados lipídicos, citoquinas, quimoquinas y factores de crecimiento²⁸.

La inmunidad que deja la infección por cada serotipo viral es duradera, probablemente de por vida y se expresa por la presencia de anticuerpos neutralizantes hemotípicos. No existe inmunidad cruzada de serotipos, excepto durante las primeras semanas o meses después de la infección. Sin embargo, cuando una persona tiene anticuerpos subneutralizantes contra uno de los virus del dengue y es infectado por otro serotipo viral se produce una respuesta infrecuente, casi exclusiva de la infección por dengue: una amplificación dependiente de anticuerpos (ADA) que se traduce en una elevada replicación viral y aumento de la viremia, lo cual condiciona y favorece el desarrollo la forma grave de la enfermedad^{29, 30}.

Experiencias foráneas con biomarcadores para predecir gravedad del dengue

En la última década, se hacen numerosos esfuerzos para identificar marcadores en el suero que puedan predecir la severidad del dengue, con énfasis en las citoquinas. Varios estudios proponen que citoquinas de inmunidad innata, ejemplo: IFN- α , interleucina-8 (IL-8) se elevan durante la fase febril temprana mientras que las citoquinas inmune adaptativas, como son factor de necrosis tumoral alfa (FNT α), interleucina-10 (IL-10), interferón gamma (IFN- γ) parecen aumentar durante la fase de efervescencia de la infección del dengue³¹.

Varios factores limitan tradicionalmente la utilidad de estos estudios en el desarrollo de biomarcadores.

Primero: la elevada variabilidad natural en la población cohorte (por ejemplo, pediátrico contra los adultos; características étnicas) usada hace difícil comparar los resultados de varios estudios.

Segundo: la mayoría de los estudios examinan caso contra control de la población de muestra en lugar de estudios longitudinales para distinguir los predictores de los indicadores. Finalmente, la falta de seguimiento en una base de población mayor para probar el pronóstico potencial de los marcadores propuestos limita su aplicación clínica³¹.

Se observan niveles elevados de muchas citoquinas diferentes en la infección del dengue, en particular, en el suero de pacientes con dengue severo altas concentraciones de citoquinas como IFN α , FNT α e IL-10; reducidos niveles de óxido nítrico asociado con niveles elevados de IL-10 se describen en los pacientes con dengue severo. El óxido nítrico contribuye a la regulación inmune, bajos niveles pueden producir incremento de citoquinas de expresión proinflamatoria, además, se conoce que el incremento de los niveles IL-10 se correlaciona con disminución de los niveles de plaquetas y alteraciones de su función. Este fenómeno puede, en parte, contribuir al desarrollo de los trastornos de la coagulación observados como complicación en la enfermedad severa; elevados niveles de IL-6 se observan en los niños con ascitis^{32, 33}.

El FNT promueve el aumento de la permeabilidad del endotelio y es probable que el aumento de los niveles de esta citoquina pueda producir un curso de la enfermedad más severo. El FNT α se encuentra en pacientes con dengue y su relación con la gravedad es propuesta recientemente²².

Otro mediador de interés es el *Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand*, TRAIL (ligando inductor del factor de necrosis tumoral relacionado con la apoptosis), que regula la replicación de monocitos infectados con el virus del dengue, lo cual evidencia así su actividad antiviral¹⁶. La liberación de TRAIL como respuesta a la infección por el virus del dengue, hace parte importante de la respuesta inflamatoria que esta induce.

En otros estudios se asocian los niveles de la proteína 1 de tipo receptor de interleucina-1, llamada IL-1RL1 o proteína ST2 con la fiebre por dengue con valores mayores en aquellos que sufren infección secundaria, lo cual sugiere una posible asociación con la gravedad de la enfermedad^{5, 23}. Estos niveles se correlacionaron negativamente con el número de plaquetas y positivamente, con el valor de las transaminasas séricas y la prolongación del tiempo de protrombina. Todo ello fundamenta la idea de que la ST2 podría ser un marcador temprano de la gravedad del dengue³⁴.

El factor de necrosis tumoral gamma (FNT γ) es el más potente inductor de indoleamina 2,3-dioxigenasa (IDO), una enzima que ha estado implicada en la defensa antimicrobiana y en la regulación auto-inmunitaria. En la infección por el virus del dengue, se reportan niveles elevados de IDO en células endoteliales infectadas por este virus³⁵. Las ferritinas pueden servir como un

potencial biomarcador para la predicción temprana de la severidad del dengue³⁶. Igualmente los niveles elevados de células rojas derivadas de las micropartículas (derivadas de la muerte apoptótica de la célula y la activación celular) en la fase aguda de la enfermedad puede servir como biomarcador para identificar pacientes con enfermedad severa³⁷.

Métodos analíticos utilizados para definir biomarcadores adecuados

a) Para el desarrollo de un panel candidato para biomarcadores de dengue³⁸

- Análisis multivariado de varianza (MANOVA): en el que se buscaban diferencias entre la enfermedad y los grupos de géneros.
- Para clasificación, un método de regresión no paramétrico. (MARS) válido para cuando existen muchas variables, este evalúa su interacción, por lo que se adecua a la complejidad del dengue.
- Modelo generalizado aditivo (GAMs) para identificar relaciones no lineales entre las variables predictoras y las salidas clínicas cuando hay gran número de variables independientes.

b) Para encontrar métodos de selección de variables para determinar biomarcadores adecuados para la predicción del dengue hemorrágico³⁹

- El procedimiento para seleccionar las variables adecuadas es esencial para generar resultados reproducibles y generalizables, el mejor método encontrado en este artículo fue el modelo de regresión generalizado regularizado, método que puede lidiar con variables categóricas, en este caso se eleva la verosimilitud y se minimiza el número de variables. Con este método se determina que el conteo de IL-10, de plaquetas y de linfocitos fueron los más importantes sobre la base de la química sérica y las medidas de citoquinas.

c) Para determinar un panel de tres biomarcadores para la predicción del dengue hemorrágico⁴⁰

- Se utiliza regresión logística y análisis de área bajo la curva (ROC), se encuentra un ROC de 0,9615 en la que las IL-10, las plaquetas y los linfocitos son los mejores elementos predictivos.

CONCLUSIONES

Con la presente revisión bibliográfica se logró familiarizar a investigadores y estudiantes de la salud con el tema relacionado con los biomarcadores para el diagnóstico precoz de la gravedad del dengue. El conocimiento de estos temas facilita integrar equipos de trabajo interdisciplinarios para convertir los resultados de las investigaciones en soluciones sostenibles a los problemas de salud.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tang K, Ooi E. Diagnosis of dengue: an update. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2012[citado 25 ene 2015]; 10(8):895-907. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/eri.12.76#abstract>
2. Estruch Rancaño L, Santín Peña M, Peláez Sánchez O, Molina Águila N, Sierra Pérez D, Muñiz Roque AM. Guía para la asistencia integral a pacientes con dengue. La Habana: Ciencias Médicas; 2012.
3. Guzmán Tirado MG, Harris E. Dengue. *Lancet.* 2015[citado 22 feb 2015]; 385(9966):453-465. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673614605729>
4. Villar LA, Gélvez RM, Rodríguez JA, Salgado D, Parra B, Osorio L, *et al.* Biomarcadores pronósticos de gravedad del dengue. *Biomédica.* 2013 [citado 25 ene 2016]; 33 (Supl 1):108-116 .Disponible en: <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/733/2169>
5. Kabisch S. Inter- and Transdisciplinarity in Urban- Environmental Research: A Subjective Inventory over Twenty Years. *Interdiscipl Scien Revie.* 2014[citado 28 abr 2016]; 39(4):392-398. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1179/0308018814Z.00000000099>
6. Chapman E, Görg C, Spangenberg JH, Tekken V, Burkhard B, Truong DT, Escalada M ,*et al.* Engaging Local Knowledge in Biodiversity Research: Experiences from Large Inter- and Transdisciplinary Projects. *Interdiscipl Scien Revie.* 2014[citado 28 abr 2016]; 39(4):323-341. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/citedby/10.1179/0308018814Z.00000000095>
7. Dankwa Mullan I, Rhee KB, Stoff DM, Pohlhaus JR, Sy FS, Stinson N, *et al.* Moving Toward Paradigm-Shifting Research in Health Disparities Through Translational, Transformational, and

- Transdisciplinary Approaches. *Am J Public Health*. 2010[citado 29 mar 2015]; 100(Supl1):19-24. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2837422/>
8. Khoury MJ, Gwinn M , Loannidis JP. The emergence of translational epidemiology: from scientific discovery to population health impact. *Am J Epidemiol*.2010 [citado 15 dic 2015]; 172(5):517-524. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2927741/pdf/kwq211.pdf>
9. Birkholtz LM, Bornman R, Focke W, Mutero C, de Jager C. Sustainable malaria control: transdisciplinary approaches for translational applications. *Malar J*. 2012 [citado 25 nov 2015]; 11:431. Disponible en : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3548719/>
- 10 Korb W, Geißler N, Strauß G. Solving challenges in inter- and trans-disciplinary working teams: Lessons from the surgical technology field. *Artif Intell Med*.2015 [citado 29 oct 2015]; 63(3):209-219.Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0933365715000020>
11. Memish ZA, Fagbo SF, Assiri AM, Rollin P, Zaki AM, Charrel R, *et al*. Alkhurma Viral Hemorrhagic Fever Virus. Proposed Guidelines for Detection, Prevention, and Control in Saudi Arabia. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012[citado 7 nov 2015]; 6(7). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3409106/>
12. Gan VCH, Leo Y-S. Current epidemiology and clinical practice in arboviral infections – implications on blood supply in South-East Asia. *ISBT Sci Ser*. 2014 [citado 25 abr 2015]; 9(1):262-267.Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/voxs.12083/abstract>
13. Lahariya C, Goel MK, Kumar A, Puri M, Sodhi A. Emergence of viral hemorrhagic fevers: Is recent outbreak of crimean congo hemorrhagic fever in India indication. *J Postgrad Med*. 2012[citado 4 abr 2015]; 58(1):39-46.Disponible en: <http://www.jpgmonline.com/article.asp?issn=0022-3859;year=2012;volume=58;issue=1;spage=39;epage=46;aulast=Lahariya?>
14. Sam SS, Syed Omar SF, Boon Teong T, Abd Jamil J, AbuBakar S. Review of Dengue Hemorrhagic Fever Fatal Cases Seen Among Adults: A Retrospective Study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013[citado 25 abr 2015]; 7(5). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3642057/>

15. Riffat M, Adnan Shahzad S, Mulazim Hussain B, Asad Aslam K, Fridoon Jawad A .Predictors for Severity of Dengue Infection during Early Days of Infection. *Walailak J Sci Tech*. 2012 [citado 30 nov 2015]; 9(4):369-374. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/235612777_Predictors_for_Severity_of_Dengue_Infection_during_Early_Days_of_Infection
16. Guzmán MG, Vázquez S. Apuntes sobre el diagnóstico de laboratorio del virus dengue. *Rev Cubana Med Trop*. 2002 [citado 16 nov 2015]; 54(3):180-188. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0375-07602002000300003&script=sci_arttext
17. OMS. Dengue: Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y Control. La Paz. Bolivia; OMS. 2009[citado 15 nov 2015]. Disponible en:
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44504/1/9789995479213_spa.pdf
18. Ho TS, Wang SM, Lin YS, Liu CC. Clinical and laboratory predictive markers for acute dengue infection. *J Biomed Sci*. 2013 [citado 8 dic 2015]; 20(1):75.Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4015130/>
19. Peña E V, Rodríguez Porto A L. Fiebras hemorrágicas y virales. Actualización, diagnóstico y tratamiento. La Habana. ECIMED; 2010.
20. Limonta Velázquez DJ. Marcadores de apoptosis en plasma y tejidos: probables implicaciones en la fisiopatología del dengue [Tesis]. La Habana: Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí; 2013.135p.Disponible en:
http://tesis.repo.sld.cu/738/1/TESIS_completa_DrC_Daniel_Limonta_7nov2013.pdf
21. Real R, Rojas G, Correa D, Barrios MA, Aldama F, Pinchi L, *et al*. Manifestaciones sistémicas del dengue. *Rev Nac (Itauguá)*. 2013 [citado 18 dic 2015]; 5(2):8-16.Disponible en:
<http://scielo.iics.una.py/pdf/hn/v5n2/v5n2a02.pdf>
22. Kurane I. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*.2007 [citado 18 dic 2015]; 30(5): 329-340.Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147957107000537>
23. Mui Wang S, Devi Sekaran S. Evaluation of a commercial SD dengue virus NS1 antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay kit for early diagnosis of dengue virus infection. *J Cli*

Microbiol. 2010[citado 5 ago 2015]; 48(8):2793-2797. Disponible en:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2916626/>

24. Correa Martínez L, Cabrera Morales C, Martínez Licor M, Martínez Núñez M. Consideraciones clínicas y terapéuticas sobre el dengue. CCM .2016 [citado 25 abr 2016]; 20(1): 80-97.

Disponible en: http://scieloprueba.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812016000100008&lng=es

25. Basu A, Chaturvedi UC. Vascular endothelium: the battlefield of dengue viruses. FEMS Immunol Med Microbiol. 2008 [citado 3 dic 2015]; 53(3):287-299. Disponible en:

<http://femsim.oxfordjournals.org/content/femsim/53/3/287.full.pdf>

26. Paravitane SA, Gomes L, Kamaladasa A, Adikari TN, Wickramasinghe N, Jeewandara C, *et al.* Dengue NS1 antigen as a marker of severe clinical disease. BMC Infect Dis. 2014[citado 16 dic 2015]; 14:570 Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4222370/>

27. Pal S, Dauner AL, Mitra I, Forshey BM, Garcia P, Morrison AC, *et al.* Evaluation of Dengue NS1 antigen rapid tests and ELISA Kits Using Clinical Samples. PLoS One.2014 [citado 4 may 2016]; 9(11). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4239072/>

28. García Menéndez G, Izquierdo Oliva A, Salinas Fernández EM, Pérez Díaz AB, Sierra Vázquez B, López Ramón D, *et al.* Posible relación entre mastocitos y plaquetas en la infección por dengue. Rev Cubana Med Trop .2014 [citado 25 mar 2015]; 66(1):152-157. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602014000100015&lng=es&nrm=iso&tlng=es

29. Torrentes Carvalho A, Ferreira Marinho C, de Oliveira Pinto LM, Batista de Oliveira D, Vieira Damasco P, Venâncio Cunha R, *et al.* Regulation of T lymphocyte apoptotic markers is associated to cell activation during the acute phase of dengue. Immunobiology .2014 [citado 4 may 2015]; 219(5):329-340. Disponible en:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0171298513002040>

30. Sierra B, Pérez AB, García G, Aguirre E, Álvarez M, González D, *et al.* Role of CC chemokine receptor 1 and 2 of its ligands in human dengue infection. Three approaches under the Cuban situation. Microbes infect. 2014[citado 4 may 2016]; 16(1):40-50. Disponible en:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S128645791300213X>

31. Kumar Y, Liang C, Bo Z, Rajapakse JC, Ooi EE, Tannenbaum SR. Serum Proteome and Cytokine Analysis in a Longitudinal Cohort of Adults with Primary Dengue Infection Reveals Predictive Markers of DHF. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012[citado 26 jul 2015]; 6(11). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3510095/>
32. Yacoub S, Wills B. Predicting outcome from dengue. *BMC Med*. 2014[citado 26 dic 2015]; 12:147. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4154521/>
33. Hottz ED, Medeiros-de-Moraes IM, Vieira-de-Abreu A, de Assis EF, Vals-de-Souza R, Castro-Faria-Neto HC, *et al*. Platelet activation and apoptosis modulate monocyte inflammatory responses in dengue. *J Immunol*. 2014[citado 25 mar 2015]; 193(4):1864-1872. Disponible en: <http://www.jimmunol.org/content/193/4/1864>
34. Becerra A, Warke RV, Bosch N, Rothman AL, Bosch I. Elevated levels of soluble ST2 protein in dengue virus infected patients. *Cytokine*. 2008; [citado 25 mar 2015]; 41(2):114-120. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043466607004747>
35. King N, Thomas SR. Molecules in focus: Indoleamine 2, 3-dioxygenase. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007 [citado 26 mar 2015]; 39(12):2167-2172. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357272507000271>
36. Soundravally R, Agieshkumar B, Daisy M, Sherin J, Cleetus CC. Ferritin levels predict severe dengue. *Infection*. 2015 [citado 24 mar 2015]; 43(1):13-19. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25354733>
37. Punyadee N, Mairiang D, Thiemmecca S, Komoltri C, Pan-Ngum W, Chomanee N, *et al*. Microparticles provide a novel biomarker to predict severe clinical outcomes of dengue virus infection. *J Virol*. 2015 [citado 28 ene 2015]; 89(3):1587-1607. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4300736/>
38. Brasier AR, García J, Wiktorowicz JE, Spratt HM, Comach G, Ju H, *et al*. Discovery Proteomics and Nonparametric Modeling Pipeline in the Development of a Candidate Biomarker Panel for Dengue Hemorrhagic Fever. *Clin Transl Sci*. 2012 [citado 26 mar 2015]; 5(1):8-20. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1752-8062.2011.00377.x/full>

39. Ju H, Brasier A. Variable selection methods for developing a biomarker panel for prediction of dengue hemorrhagic fever. BCM Res Note. 2013[citado 12 mar 2015]; 6:365. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3846812/>

40. Brasier A, Ju H, Garcia J, Spratt H, Victor SS, Forshey B, *et al.* A Three-Component Biomarker Panel for Prediction of Dengue Hemorrhagic Fever. Am J Trop Med Hyg. 2012 [citado 25 mar 2015]; 86(2):341-348. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3269290/>

Recibido: 12 de junio de 2015

Aprobado: 26 de abril de 2016

Dr. *José A Betancourt Bethencourt*. Centro de Inmunología y Productos Biológicos (CENIPBI). Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey. Cuba.

Correo electrónico: josebetancourt.cmw@infomed.sld.cu