

INSTITUTO DE HEMATOLOGIA E INMUNOLOGIA

Autoanticuerpos antiplaquetarios en la fiebre hemorrágica por dengue

Por:

Dr. PAULINO BASANTA OTERO,* Lic. CARLOTA GONZALEZ VILLALONGA** y
Téc. LISSETTE ORBEAL ALDAMA***

Basanta Otero, P. y otros. *Autoanticuerpos antiplaquetarios en la fiebre hemorrágica por dengue.*

Se investiga la presencia de autoanticuerpos antiplaquetarios mediante la prueba de inmunofluorescencia directa sobre suspensión plaquetaria (PSIFT), en 25 pacientes adultos con el diagnóstico de fiebre hemorrágica por dengue (FHD), que presentaban trombocitopenia, con manifestaciones hemorrágicas, y sin ellas durante la epidemia de 1981 causada por el serotipo 2. Los resultados obtenidos no concuerdan con algunos de los comunicados en la literatura. Se discuten las ventajas de la técnica empleada sobre los precedentes en la detección de autoanticuerpos y la posibilidad de que los resultados previos sean realmente falsos positivos causado por la presencia de inmunocomplejos circulantes, agregados y aumento de la concentración sérica de las Inmunoglobulinas, entre otros, factores presentes en esta enfermedad.

Muchos autores han descrito la presencia de trombocitopenia después de infecciones virales. Entre los mecanismos implicados en el descenso del número de plaquetas se encuentran: la disminución de su producción, el aumento de su destrucción, el daño directo del virus sobre las plaquetas y los mediadores por mecanismos inmunológicos.

Entre las infecciones virales asociadas a trombocitopenia están las causadas por arbovirus.¹ La tendencia al sangramiento en la fiebre hemorrágica por dengue (FHD) se cree que sea debida a múltiples factores, entre ellos, el aumento de la fragilidad de las paredes capilares, la trombocitopenia y la presencia de coagulación intravascular diseminada, con el consiguiente consumo de plaquetas y factores de la coagulación.^{2,3}

* Especialista en inmunología. Jefe de la Sección de Inmunoematología. Departamento de Inmunología. Instituto de Hematología e Inmunología.

** Licenciada en Ciencias Biológicas. Departamento de Inmunología. Instituto de Hematología e Inmunología.

*** Técnico medio en Inmunoematología. Departamento de Inmunología. Instituto de Hematología e Inmunología.

CUADRO
DATOS CLINICOS Y DE LABORATORIO DE 25 PACIENTES
CON EL DIAGNOSTICO DE FHD

Casos	Edad (años)	Sexo	Raza	Manifes- taciones purpúricas	Manifestaciones hemorrágicas	Días de evolución	Días del estudio	Recuento de plaquetas / mm ³ Días antes del estudio			
								1	2	3	4
1	42	M	B	NO	NO	5	30 000				
2	22	M	M	NO	NO	4	40 000				
3	71	F	B	NO	NO	8	60 000				
4	38	F	B	NO	NO	6	105 000		128 000		
5	35	M	B	NO	NO	6	60 000	155 000	142 000		
6	15	F	B	NO	NO	8	70 000				
7	51	M	N	NO	NO	6	70 000				
8	16	F	N	NO	NO	3	140 000		85 000		
9	50	F	B	NO	NO	4	70 000	156 000			
10	36	F	M	NO	NO	9	170 000		76 000		
11	47	F	B	SI	NO	7	35 000	70 000			
12	36	F	B	SI	NO	6	53 000	57 000	33 000		160 000
13	26	F	B	SI	NO	8	29 000		58 000	90 000	
14	28	M	B	SI	NO	5	10 000				
15	65	F	M	SI	NO	10	41 000				
16	29	F	B	SI	NO	5	38 000				
17	50	F	B	SI	NO	7	65 000				
18	30	F	B	NO	gingivorragia	7	34 000	65 000			
19	36	F	B	NO	gingivorragia	7	48 000	57 000			
20	16	F	B	NO	metrorragia	4	28 000	80 000		170 000	
21	42	F	M	NO	hematemesis	4	72 000		120 000		
22	45	M	M	NO	enterorragia	8	40 000		53 000		
23	38	F	M	NO	epistaxis						
					gingivorragia	10	94 000	140 000		90 000	
24	45	F	B	SI	metrorragia	7	30 000			38 000	
25	20	M	B	SI	gingivorragia	7	32 000				

Algunos investigadores consideran que uno de los mecanismos de la trombocitopenia en la FHD es la supresión directa que ejerce el virus sobre el megacariocito.⁴ Para otros es el incremento del atrapamiento de las plaquetas en los vasos viscerales distendidos y congestionados.^{5,6}

Existe un tercer grupo de autores que han hallado anticuerpos antiplaquetarios y sugieren que éste sería, otro factor a tener en cuenta en la patogenia de la trombocitopenia en esta enfermedad.^{3,7,8} Recientemente, *Helmerborst y colaboradores*,⁹ mediante la prueba de inmunofluorescencia directa sobre plaquetas (PSIFT) pudieron establecer la naturaleza autoinmune de la trombocitopenia, en un grupo de pacientes que padecieron enfermedades virales comprobadas incluyendo un paciente con dengue no hemorrágico.

El objetivo de este trabajo consiste en investigar la presencia de auto-anticuerpos antiplaquetarios, mediante la técnica señalada anteriormente, en un grupo de pacientes con el diagnóstico de FHD estudiados durante la epidemia ocurrida en nuestro país en 1981.¹⁰

MATERIAL Y METODO

Se estudiaron 25 pacientes adultos (7 hombres y 18 mujeres), con el diagnóstico clínico y serológico de FHD que presentaban trombocitopenia (cuadro).

El diagnóstico serológico de dengue se realizó en el laboratorio de arbovirus del instituto de medicina tropical "Pedro Kouri". De acuerdo con los resultados de la serología, estos enfermos se consideran como casos de reinfección. El agente causal identificado fue el serotipo dengue 2.¹¹

Para la determinación de autoanticuerpos antiplaquetarios se llevó a cabo la técnica descrita por *Helmerhorst y colaboradores*,⁹ Se obtuvieron muestras de sangre venosa en Na₂ EDTA como anticoagulante y se procesaron en las 24 horas siguientes. Una vez aisladas las plaquetas por centrifugación diferencial, se lavaron con solución amortiguadora de fosfato-EDTA, se fijaron con paraformaldehído y se ajustaron a una concentración de $4-10 \times 10^8$ /ml. Después se incubaron con antisuero antiglobulínico marcado con isotiocianato de fluoresceína (anti-Igs-FITC (F(ab')₂) cod. S-26-H17-1-F3, CLB), se resuspendieron en una mezcla de solución amortiguadora de fosfato glicerol y se examinaron bajo el microscopio UV. Los resultados se expresaron semicuantitativamente de 0 a ++++.

Como control negativo se utilizaron plaquetas de donantes sanos del grupo 0, así como suero AB. Como control positivo se utilizaron plaquetas de donantes sanos sensibilizados con un suero poliespecífico anti-HLA.

RESULTADOS Y DISCUSION

En ninguno de los pacientes estudiados fue posible detectar la presencia de autoanticuerpos antiplaquetarios. Estos resultados no concuerdan con los comunicados en la literatura.^{3,7,8}

Debe destacarse que las técnicas empleadas por los autores que han investigado la presencia de anticuerpos antiplaquetarios en la FHD, no son verdaderamente útiles en la detección de autoanticuerpos antiplaquetarios según recientes revisiones^{12,13} y por otra parte, pueden brindar falsos resultados positivos en presencia de diferentes

factores, entre los que se encuentran: inmunocomplejos circulantes, agregados de inmunoglobulinas y unión inespecífica de inmunoglobulinas séricas, sobre todo, cuando sus concentraciones son elevadas. Estos factores pueden estar presentes en la FHD y ser la causa de interpretaciones positivas falsas.^{12,13}

La técnica empleada en nuestro trabajo es una de las más sensibles en la detección de autoanticuerpos antiplaquetarios y una de las menos interferida por los factores antes mencionados.¹²

No obstante, creemos necesario repetir estas experiencias en un número mayor de pacientes con FHD, así como incluir en las mismas a enfermos pediátricos, ya que en este último grupo se han hallado anticuerpos antiplaquetarios.^{3,7,8}

SUMMARY

Basanta Otero, P. et al. *Antiplatelet autoantibodies in the dengue hemorrhagic fever.*

Presence of antiplatelet autoantibodies is investigated by means of platelet suspension direct immunofluorescence test (PSIFT), in 25 adult patients with diagnosis of dengue hemorrhagic fever (DHF), who presented thrombocytopenia, with and without hemorrhagic manifestations, during the epidemic of 1981 caused by serotype 2. Results obtained do not agree with some of those reported in the literature. Advantages of technique used on the precedents for detection of autoantibodies and possibility of previous results being truly falsepositive caused by presence of aggregate and circulating immuno-complexes and increased serum concentration of immunoglobulins, among others, factors present in this disease, are discussed.

RÉSUMÉ

Basanta Otero, P. et al. *Autoanticorps antiplaquetaires dans la fièvre hémorragique par dengue.*

On étudie la présence d'autoanticorps antiplaquetaires au moyen de l'épreuve d'immunofluorescence directe sur suspension plaquettaire, chez 25 patients adultes avec le diagnostic de fièvre hémorragique par dengue (FHD), qui présentaient thrombocytopenie, avec et sans manifestations hémorragiques, pendant l'épidémie de 1981 causée par le sérotype 2. Les résultats obtenus ne s'accordent pas à certains résultats rapportés dans la littérature. On discute les avantages de la technique employée sur les précédentes dans le dépistage d'autoanticorps, et la possibilité que les résultats préalables soient vraiment faussement positifs à cause de la présence d'immunocomplexes circulants, d'agrégats, et par augmentation du taux sérique d'immunoglobulines, entre autres facteurs qui sont présents dans cette maladie.

BIBLIOGRAFIA

1. Wilson, J. J. et al.: Infection induce thrombocytopenia. *Semin thromb hemost* 8- 217, 1982.
2. Bierman, H. R.; E. F. Nelson: Hematodepressive virus disease of thailand. *Ann Intern Med* 62: 867, 1965.
3. Kho, L. K. et al.: International Congress, ISH-19BT, p. 291, Budapest, 1982.
4. Nelson, E. R.; H. R. Bierman: Dengue fever. A thrombocytopenic disease *J Am Med Assoc* 190: 99, 1964.
5. Bhamarapravati, N. et al.: Pathology of the Thai haemorrhagic fever in the Calcuta Out Break. *Bull WHO* 35: 47, 1966.
6. Aikat, B. K.: Pathology of mosquito borne Haemorrhagic fever In the Calcuta Out Break. *Bull WHO* 35: 48, 1966.
7. Na-Nakom, S. et al.: Bone Marrow Studies in Thai Haemorrhagic fever *Bull WHO* 35-

8. *Nelson, E. R. et al.*: Haematology of Thai Haemorrhagic fever (Dengue). Bull WHO 35: 43. 1966.
9. *Helmerhorst, F. M. et al.*: Primary and secondary autoimmune thrombocytopenia. Scand J Haematol 28: 319, 1982.
10. *Halstead, S. B.*: La OMS combate la fiebre hemorrágica dengue. Cron OMS 36: 70, 1982.
11. *Kourí, G. et al.*: Dengue hemorrágico en Cuba, 1981. Diagnóstico rápido del agente etiológico. Bol Sanit Panam 93: 414. 1982.
12. *Helmerhorst, F. M. et al.*: Detection of platelet Antibodies: A comparison of three techniques. Vox Sang 39: 83, 1980.
13. *Kelton, J. G.; S. Gibbons.*: Autoimmune platelet Destruction: idiopathic Thrombocytopenic Purpura. Semin Thromb Hemost 8: 83, 1982.

Recibido: 29 de agosto de 1983

Aprobado: 12 de enero de 1984

Dr. *Paulino Basanta Otero*

Instituto de Hematología e Inmunología

Apartado 8070

Zona Postal 8

Ciudad de La Habana.