

USO DE PENTOXIFILINA PARA LA MODULACIÓN DE LA RESPUESTA  
INMUNE EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA CON DENGUE  
HEMORRÁGICO.

TATIANA ESTHER ZABALETA SALAZAR

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA  
FACULTAD DE SALUD  
ESPECIALIZACION EN PEDIATRIA  
NEIVA  
2010

USO DE PENTOXIFILINA PARA LA MODULACIÓN DE LA RESPUESTA  
INMUNE EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA CON DENGUE  
HEMORRÁGICO.

TATIANA ESTHER ZABALETA SALAZAR

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de  
Especialista en Pediatría

Asesor  
Dra. DORIS SALGADO GARCÍA  
Medico Pediatra

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA  
FACULTAD DE SALUD  
ESPECIALIZACION EN PEDIATRIA  
NEIVA  
2010

**Nota de aceptación:**

-----  
-----  
-----  
-----  
-----  
-----

-----  
Firma del presidente del jurado

-----  
Firma del jurado

-----  
Firma del jurado

Neiva, julio del 2010

## DEDICATORIA

A mi papá quien me enseñó que la vida es sueño, pero que los sueños no solo sueños son, sino que debemos luchar para cumplirlos.

A mi mamá, Maestra en Tolerancia, Perseverancia, Responsabilidad y Amor.

A mis amigos y su apoyo incondicional.

TATIANA ESTHER

## **AGRADECIMIENTOS**

La autora expresa sus agradecimientos a:

A Dios por la vida y todas las buenas oportunidades que nos brinda diariamente.

A la Doctora Doris Salgado Garcia Medico Pediatra, por su paciencia, dedicación y compartirme su pasión por la investigación.

A La Universidad Surcolombiana por la financiación del trabajo.

Al Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de Neiva por permitir la realización del estudio.

A Los pacientes y familiares por participar

A Pediatras, Residentes y Personal asistencial del servicio de Pediatría por su enorme colaboración durante estos muy buenos 3 años.

A todos mil gracias....

## CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
INTRODUCCIÓN	13
1. JUSTIFICACION	14
2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
2.1 PREGUNTA DE INVESTIGACION	16
3 OBJETIVOS	17
3.1 OBJETIVO GENERAL	17
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	17
4 MARCO TEÓRICO	18
4.1 EL VIRUS	18
4.1.1 Ciclo de trasmisión	18
4.1.2 Patogénesis	18
5. MANIFESTACIONES CLÍNICAS	23
6 METODOLOGÍA	25
6.1 PACIENTES	25
6.1.1 Monitorización del paciente	25
6.1.2 Recolección de muestras	25
6.2 MÉTODOS ESTADÍSTICOS	26
6.2.1 Definiciones	26
6.2.2 Categoría Clínica	26
6.3 DEFINICIÓN DE VARIABLES	26
6.3.1 Edad	26
6.3.2 Sexo	27
6.3.3 Procedencia	27
6.4 DEFINICIÓN DENGUE HEMORRÁGICO	27
6.4.1 Definición conceptual	27
6.4.2 Grado de FDH	28
6.4.3 Aspectos Éticos	29

	<b>Pág.</b>
7. RESULTADOS	30
8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	35
BIBLIOGRAFIA	37
ANEXOS	42

## LISTA DE TABLAS

		Pág.
<b>Tabla 1</b>	Características generales de Pacientes con Dengue durante el periodo Abril –Agosto 2009	30
<b>Tabla 2</b>	Estancia Hospitalaria y Niveles de TNF a de Pacientes con Dengue durante el periodo Abril – Agosto 2009.	32

## LISTA DE FIGURAS

		Pág.
<b>Figura 1</b>	Días de enfermedad en el momento de ingresar al estudio	31
<b>Figura 2</b>	Clasificación del Dengue al ingresar al estudio según OMS	31
<b>Figura 3</b>	Comparación de días estancia en UCI Pacientes Pentoxifilina vs Control	32
<b>Figura 4</b>	Niveles de NS1 en todos los grupos.	33
<b>Figura 5</b>	Comparación de valores de TNF en pacientes con FDH grado III Vs controles	34
<b>Figura 6</b>	Tendencia diaria de niveles de TNF □ □ Grupo Pentoxifilina vs Control	34

## LISTA DE ANEXOS

		Pág.
<b>Anexo A</b>	Aprobación del Comité de Ética y Consentimiento Informado	43
<b>Anexo B</b>	Uso de Pentoxifilina para la modulación de la respuesta inmune en Población Pediátrica con Dengue Hemorrágico	46
<b>Anexo C</b>	Uso de Pentoxifilina para la modulación de la respuesta inmune en Población Pediátrica con Dengue Hemorrágico.	47
<b>Anexo D</b>	Estudios clínicos que evalúan los efectos de pentoxifilina en enfermedades severas, publicados en la literatura inglesa desde 1996. (24)	48
<b>Anexo E</b>	Revisión de estudios choque dengue hemorrágico	50
<b>Anexo F</b>	Uso de Pentoxifilina para la modulación de la respuesta inmune en Población Pediátrica con Dengue Hemorrágico	52

## RESUMEN

**Objetivos.** Establecer la eficacia de la pentoxifilina para la modulación de la respuesta inmune en pacientes pediátricos con fiebre dengue hemorrágica.

**Materiales y Métodos.** Estudio prospectivo aleatorizado doble ciego desarrollado de abril- agosto de 2009, fueron incluidos 55 pacientes con criterios clínicos de OMS para dengue y confirmación serológica, asignados en 2 grupos quienes además de las medidas clínicas necesarias reciben el primero pentoxifilina y el segundo placebo. Se realizó monitorización clínica completa y mediciones de TNF $\alpha$  durante 3 días consecutivos.

**Resultados.** Se encontró una disminución estadísticamente significativa de reducción niveles de TNF $\alpha$  en todos los casos en que el medicamento fue administrado ( $p=0,02$ ), pero fue especialmente significativo en el grupo pentoxifilina con clasificación clínica de dengue Grado III ( $p=0.003$ ).

**Conclusiones.** Teniendo en cuenta el papel del TNF $\alpha$  en la fisiopatología del dengue y en el daño tisular, se presenta la pentoxifilina como una medida terapéutica costo-efectiva durante la fase aguda del dengue severo permitiendo reducción de complicaciones y muerte.

**Palabras Claves.** Dengue, Fiebre Dengue, Fiebre Dengue Hemorrágica, Pentoxifilina, TNF $\alpha$

## ABSTRACT

**Introduction.** Dengue is the main arthropod-borne viral infection in the world, severe forms become a challenge for the clinician because at present no specific treatment is available and there is an increase in the number cases, complications and mortality.

**Objectives.** To establish the efficacy of pentoxifylline for the modulation of the immune response in pediatric patients with dengue hemorrhagic fever.

**Materials and Methods.** A prospective randomized double-blind study was developed from April to August 2009. A total 55 patients with symptoms of dengue according to WHO criteria and serologic confirmation of dengue were included and assigned into 2 groups who were treated with usual treatment, but in the first Pentoxifylline was included, whereas in the second was placebo. Complete clinical monitoring and TNF- $\alpha$  serum levels were determined during 3 consecutive days.

**Results.** A statistically significant decrease of TNF- $\alpha$  levels in dengue patients treated with pentoxifylline was found ( $p=0.02$ ), this result was more significant in patients classified clinically as having dengue III ( $p = 0.003$ ).

**Conclusions.** Taking into account the role of TNF- $\alpha$  in the pathophysiology of dengue, pentoxifylline is suggested as a cost-effective therapeutic measure during the acute phase of severe dengue leading to reduction of complications and death.

**Keywords.** Dengue, Dengue Fever, Dengue Hemorrhagic Fever, Pentoxifylline, TNF- $\alpha$

## INTRODUCCIÓN

El dengue es la principal infección viral transmitida por vectores que afecta países tropicales y subtropicales. Se estima que aproximadamente 2.5 billones de personas a nivel mundial habitan en zonas endémicas para dengue. En las últimas décadas ha afectado gran número de países en América Latina, dentro de los cuales se encuentra Colombia.

El incremento de casos ha sido global siendo la población infantil, la más afectada: el 90% de los 890000 casos de Fiebre Dengue Hemorrágica (FDH) reportados en 2007 por OMS para las Américas fue en menores de 15 años. Se estima que 500.000 personas requieren hospitalización cada año por FDH, de los cuales una gran proporción son niños, cerca del 2.5% de los afectados mueren (1).

Colombia, a pesar de los diversos esfuerzos por controlar el vector y por estudiar más el comportamiento de ésta enfermedad y la respuesta fisiopatológica dada al virus dengue, sigue estando en los principales lugares de prevalencia de fiebre dengue y FDH/SSD, ubicado en el segundo lugar en las Américas solamente precedido por Brazil.

El dengue en Colombia, representa un problema prioritario en salud pública, debido a la reemergencia e intensa transmisión con tendencia creciente, comportamiento de ciclos epidémicos cada dos o tres años, el aumento en la frecuencia de brotes de dengue hemorrágico, y síndrome de choque por dengue, la circulación simultánea de diferentes serotipos, la reintroducción del serotipo 3, la infestación del *Aedes Aegypti* en más del 90% de territorio nacional situado por debajo de los 2.200 msnm, El Departamento del Huila ha tenido un lugar muy importante en la prevalencia de FD y FDH/SSD, estando en el segundo lugar en los últimos cinco años.

## 1. JUSTIFICACIÓN

En la última década el dengue hemorrágico ha tenido una expansión a nivel mundial, siendo actualmente catalogado como una causa evitable de muerte en buena parte de las regiones tropicales y subtropicales. En Colombia se ha presentado un incremento en la incidencia con un reporte al año 2003 de 3657 casos anuales (3).

El Comportamiento en el Huila a partir de 1991 ha sido de epidemia - endemia con un número creciente de casos (2). En el Hospital Universitario los casos atendidos en el servicio de pediatría pasaron de 145 en 2003 a 322 en el 2007 reflejo de la realidad Nacional.

Muchos grupos de investigación trabajan alrededor del mundo en diferentes áreas especialmente en inmunología, diagnóstico, predicción de severidad y vacunas del dengue.

Según búsqueda realizada en MEDLINE en abril de 2008 sobre investigación en enfermedades tropicales identifica, 1194 estudios sobre tratamiento de malaria, 107 en Leishmania, y 59 para enfermedad de chagas, solo 39 de dengue, la mayoría dedicados a vacunas (5).

Para países como Colombia donde existen tantas necesidades básicas por resolver, las hospitalizaciones implican un alto costo social y económico que demanda optimizar los recursos de la salud para aumentar coberturas, es prioritario obtener alternativas de tratamiento que reduzcan la severidad de los casos de FDH/SSD, reflejándose en menos costos de hospitalización e Impactando sobre la mortalidad de la población infantil.

Con este trabajo se pretende determinar la posibilidad de disminuir la severidad y muerte por dengue hemorrágico en niños mediante la utilización de pentoxifilina como modulador de la respuesta inmune en el tratamiento de los pacientes que ingresan al servicio de pediatría del Hospital Universitario de Neiva.

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El dengue en Colombia, representa un problema prioritario en salud pública, debido a la reemergencia e intensa transmisión con tendencia creciente, comportamiento de ciclos epidémicos cada dos o tres años, el aumento en la frecuencia de brotes de FDH y SSD, la circulación simultánea de diferentes serotipos, la reintroducción del serotipo 3, la infestación del *Aedes aegypti* en más del 90% de territorio nacional situado por debajo de los 2.200 metros bajo el nivel del mar (2). El Departamento del Huila ha tenido un lugar muy importante en la prevalencia de FD y FDH/SSD, estando en el tercer lugar en los últimos cinco años (3).

Se estima que 500.000 personas requieren hospitalización cada año por dengue hemorrágico, de los cuales una gran proporción son niños, cerca del 2.5% de los afectados mueren (1).

En Colombia las tasas de incidencia se han incrementado en los últimos años con los datos para 2003 que oscilan entre 113,4 y 286,7 casos por 100000 habitantes. El Huila desde año 2003 ocupa el tercer lugar a nivel país en los reportes de casos de dengue hemorrágico, con una incidencia de 71, 5 por 100000 habitantes (3).

Desde 2003 han ingresado 132 niños a la UCIP de Hospital Universitario de Neiva, la mayor parte de los pacientes tienen complicaciones debidas a fuga vascular. Este ingreso a la UCIP tiene implicaciones médicas, familiares y económicas.

En promedio el tratamiento de un paciente con FDH es de 350 dólares si ingresa a la UCIP cambia a 1500. Países como Cuba el promedio es 299, Tailandia 158, Nicaragua 44 (4) cifras significativas económicamente hablando para países en vía de desarrollo como el nuestro, lo más relevante es el trauma que representa para el menor la hospitalización y el estar separado de su familia y su entorno.

A pesar de los esfuerzos realizados desde diferentes sectores para lograr cambiar los hábitos en la comunidad y de esta forma reducir el número de casos de dengue presentados anualmente, las estadísticas muestran una realidad diferente con incremento no solo de casos sino con extensión de la enfermedad a un mayor número de zonas y circulación de los 4 serotipos del virus.

Las condiciones socioeconómicas a las que está sometida un alto porcentaje de la población, sin suministro garantizado de agua potable obligan a tener depósitos en las viviendas generando un ambiente propicio para la reproducción del vector.

Hasta que esta situación se modifique seguiremos atendiendo casos de dengue Hemorrágico, donde es la población infantil la más afectada.

Actualmente no existe tratamiento específico para FDH, se realiza sostén y monitoreo del paciente durante la enfermedad haciendo necesario encontrar medidas que impacten el curso natural de la enfermedad y de esta forma reducir sus complicaciones dentro de ellas la más grave que es la muerte.

## **2.1 PREGUNTA DE INVESTIGACION**

¿La pentoxifilina reduce la severidad de cuadro clínico en pacientes pediátricos con dengue hemorrágico al modular la respuesta inmune?

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

Establecer la eficacia de la Pentoxifilina para la modulación de la respuesta inmune en pacientes pediátricos con fiebre dengue hemorrágica.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Observar la evolución de los patrones de factor de necrosis tumoral alfa, en las diferentes fases del dengue hemorrágico y su afectación con el uso de Pentoxifilina.

Determinar la utilidad del NS1 para el diagnóstico temprano de dengue hemorrágico.

Establecer relación entre niveles de factor de necrosis tumoral  $\alpha$  con la severidad del cuadro clínico y las complicaciones asociadas a choque dengue.

Determinar la concordancia entre niveles de NS1 e Inmunoglobulina M como diagnóstico de dengue.

## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1 EL VIRUS

El Virus Dengue (VD) es un virus RNA positivo representado por 4 serotipos: VDEN 1, VDEN 2, VDEN3 y VDEN 4; los cuales exhiben características antigénicas y serología diferentes, y además pueden presentar variantes genéticas (genotipos y epítopes) dentro de un mismo serotipo relacionadas con la virulencia y la procedencia geográfica de la cepa .

El virión es infeccioso y está compuesto por 6% de ARN, 66% de proteínas, 9% de carbohidratos y 17% de lípidos. El genoma tiene una longitud de 9500 a 12500 nucleótidos, y da lugar, como se observa en la Figura 1, a 3 proteínas estructurales: la proteína E de envoltura, prM de membrana y la proteína C de cápside y a 7 proteínas no estructurales (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b y NS5) (6).

**4.1.1 Ciclo de trasmisión.** Brancoft (1906) identificó por primera vez al mosquito *Aedes aegypti* como el vector del Dengue y actualmente es el principal vector de esta enfermedad en América. Los cuatro serotipos del virus han sido aislados de mosquitos infectados naturalmente de esta especie; pero, otras especies como *Aedes albopictus*, *A. albifasciatus*, *A. mediovittatus*, *A. polinesiesis*, *A. scutellaris* y *A. niveus* pueden también mantener la trasmisión (7).

El ciclo endémico y epidémico del virus Dengue es mantenido por el vector a través de la transmisión mosquito-hombre-mosquito, siendo el humano el huésped definitivo y reservorio del virus. La intensidad y tiempo de la transmisión dependen de la abundancia del vector y la presencia de humanos infectados con títulos altos de viremia, la cual comienza un día antes de la fiebre y se extiende hasta 6 u 8 días después del inicio de la enfermedad.

Luego de la picadura del mosquito y la introducción del virus en la piel del hospedero, sigue un periodo de incubación viral inaparente que puede variar entre 2 a 7 días. Al cabo de este tiempo la enfermedad comienza a manifestarse abruptamente con fiebre, cefalea y malestar general.

**4.1.2 Patogénesis.** Las características del FDH/ SSD son la fuga vascular, trombocitopenia y coagulopatía; el virus dengue induce activación anómala de CD4/CD8 y la sobreproducción de citoquinas, Los anti- Ns1 o anticuerpos anti dengue pueden reaccionar con plaquetas y células endoteliales, la unión con las plaquetas induce lisis plaquetaria y

cuando el complemento se une a células endoteliales induce su lisis o apoptosis (7, 8, 9).

La infección por virus dengue causa disfunción en la célula endotelial y el hepatocito. La regulación de ICAM – 1 en la célula endotelial y la generación de quimoquinas aumentan la adherencia a neutrófilos y células mono nucleares lo cual lleva a más daño celular (10, 11).

La infección por virus dengue causa intensa activación inmune: Inversión de la relación de CD4/CD8 lo cual reduce la habilidad del sistema inmune para identificar el virus, sobreproducción de citoquinas que afectan los monocitos y células endoteliales y hepatocitos (12).

La interleuquina 6 es una citoquina muy importante para la producción de anticuerpos y sus niveles en el plasma pueden ser usados como marcadores tempranos de fuga vascular (13).

Altos niveles de activación de marcadores de células T tales como receptor soluble de LI2, CD4 Soluble, CD8 soluble, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , y GM-CSF, son detectados en niños infectados con dengue, estos marcadores se encuentran más altos en FDH/SSD que en pacientes DF. También altos niveles séricos de citoquinas inhibitorias como IL 10 o receptor soluble de TNFR1 y s TNFR2 fueron encontrados en FDH (14).

Se ha sugerido que el virus induce una supresión de la médula ósea con disminución de síntesis de plaquetas favoreciendo trombocitopenia.

Los pacientes infectados con virus dengue usualmente son leucopenicos por varios días durante la infección aguda, caracterizado por una disminución del número absoluto de neutrófilos y monocitos. Se observa una baja en la respuesta proliferativa de mitogeno PBMC durante la infección, asociado a daños en la calidad y cantidad de las células.

El VD puede infectar las células dendríticas inmaduras y replicarse en monocitos o macrófagos. Al replicarse dentro de la célula dendrítica se favorece la maduración con producción de citoquinas, especialmente de TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  (15).

El dengue es un virus hepatotrofico, puede causar lesión directa del hepatocito al replicarse en él y conllevar a hepatitis. Las cifras de AST y ALT están elevadas, encontrándose AST 1- 1.5 veces más elevada que ALT (16).

Al ser el hígado el sitio de producción de factores de coagulación su síntesis se ve afectada, reduciendo sus niveles, aumentan el consumo, además de producción defectuosa; además la interleuquina 6 puede disminuir la producción de factor XII, el primer factor de la cascada de coagulación (14).

La prolongación del PTT en pacientes con dengue se produce probablemente por la síntesis alterada del factor XII en el Hígado.

La coagulopatía asociada con la infección de VD se encuentra bien descrita pero el mecanismo no se encuentra completamente aclarado. El Sangrado severo raramente ocurre en niños (casi siempre asociado con choque profundo) y no se han visto complicaciones trombóticas. Un aumento de la actividad del TTP y la reducción de las concentraciones de fibrinógeno son causa de sangrado además de la trombocitopenia (17).

El TNF $\alpha$  es la citoquina primaria implicada en la patogénesis de FDH/SSD, actúa localmente activando macrófagos, pero sistémicamente puede ser la responsable de la fuga vascular (6,14).

El TNF  $\alpha$  se encuentra aumentado en monocitos infectados por VD y las células muestran permeabilidad aumentada en respuesta a los superantígenos producidos por los macrófagos infectados.

La asociación de TNF $\alpha$  con la severidad del VD ha sido confirmada en estudios. Dada la evidencia del aumento de TNF $\alpha$  en pacientes con FD/FDH combinado con la evidencia in vitro y estudios animales, se asocia fuertemente al TNF  $\alpha$  con la patogénesis de la infección por VD (6, 15-17).

El TNF $\alpha$  es una citoquina pro inflamatoria, producida sobre todo por los macrófagos y ejerce sus efectos sobre las células tumorales e inflamatorias. De la misma manera, otras células pueden producirlo como respuesta a un estímulo, tales como astrocitos, microglías, miocitos y fibroblastos.

El TNF- $\alpha$  tiene una potente actividad citotóxica, capaz de asesinar células tumorales y de actuar como un mediador letal en la respuesta inmune aguda o crónica de enfermedades inflamatorias crónicas e infecciosas.

Las principales actividades biológicas del TNF $\alpha$  han podido ser reproducidas utilizando la proteína purificada o recombinante:

- Producir necrosis hemorrágica de tumores, en injuria tisular y choque, gracias a sus propiedades pro inflamatoria sobre el endotelio vascular.

- Inducir apoptosis en algunos tumores y líneas celulares transformadas.
- Producir caquexia, al estimular la lipólisis, inhibir la actividad de la lipoproteína lipasa en los adipositos y estimular la lipogénesis hepática.

Pacientes con infección aguda con VD tienen niveles elevados de TNF $\alpha$  en suero, e incremento en la expresión endotelial de ICAM -1 *in vitro*, este efecto fue bloqueado por anticuerpos anti TNF $\alpha$ . Las proteínas del VD pueden inducir directamente expresión de TNF $\alpha$  y NS1 aumentando la secreción de citoquinas como IL-6, la cual se encuentra involucrada en la inducción de fiebre y producción de proteínas de la fase aguda desde el hígado.

En estudios comparativos entre cuadros severos y leves se ha comprobado que efectivamente los niveles de TNF $\alpha$  están más elevados en el primer caso (Chaturvedi et al. 2001) (11,18-21).

Y acompañando el final de la fase febril y el inicio de la defervescencia. El TNF $\alpha$  además contribuye a daño celular a través de apoptosis y es capaz de activar la coagulación y producir sangrados entre otras acciones. (22,23).

Si esta citoquina y probablemente sus receptores juegan un papel importante en la presentación de las formas severas de la enfermedad, el uso de medicamentos con actividad anti TNF $\alpha$  pudiera ofrecer una oportunidad para los pacientes, como ya se demostró en modelos experimentales en animales (20)

La Pentoxifilina es un derivado de las metilxantinas con propiedades similares a la teobromina, cafeína y teofilina (20). Es inhibidora de la fosfodiesterasa, antagoniza competitivamente con la adenosina, modifica la distribución del calcio intracelular, inhibe los procesos de reparación del ADN y modula la producción de algunas prostaglandinas (20).

A diferencia de otros fármacos del mismo grupo, la pentoxifilina posee mínimos efectos cardiacos. Puede administrarse por vía oral o intravenosa. Su absorción intestinal es rápida, alcanzando picos plasmáticos al cabo de unas tres horas. Este fármaco se metaboliza en los eritrocitos y en el hígado, eliminándose al cabo de una vida media de tres horas aproximadamente.

Existe un extenso reciclaje entero hepático de sus metabolitos, entre ellos el M1 y M5 que son activos. Más del 90% de la pentoxifilina absorbida se excreta por la orina en forma de seis productos metabólicos.

La pentoxifilina, por su parte estimula al endotelio vascular para que libere prostaciclina  $I_2$  que inhibe la adhesión y agregación plaquetaria. (21) Sobre el sistema fibrinolítico actúa de muchas maneras. Tanto ella como sus metabolitos estimulan la liberación de activador tisular del plasminógeno (tPA) y disminuyen el nivel de liberación del factor de Von Willebrand. Algunos de los efectos beneficiosos de la pentoxifilina en estados de hipercoagulabilidad estarían relacionados con sus efectos anti TNF  $\alpha$  (22,23).

Berman y col asimismo apreciaron que bloqueaba la síntesis del colágeno de los fibroblastos inducida por el TNF  $\alpha$ , del glicosaminoglicano y de la actividad colagenolítica (24). Se determinó que estos efectos selectivos inhibitorios aparecían sin que se alterase el receptor RNAm del TNF  $\alpha$  ni el número de receptores celulares, o la afinidad de estos receptores. Ello sugiere que las actividades inhibitorias de la pentoxifilina sobre los fibroblastos están mediadas en un locus diferente de los receptores TNF $\alpha$  (25).

Recientemente se ha comprobado que la pentoxifilina posee una capacidad terapéutica para algunas enfermedades mediadas por citoquinas, incluyendo la dermatitis de contacto irritativo y alérgico, el SIDA, la toxicidad relacionada con trasplantes, y el choque séptico vía inhibición del TNF  $\alpha$  (26).

La pentoxifilina se ha descrito que bloquea el TNF  $\alpha$ , que como se mencionó anteriormente juega un papel fundamental en la fisiopatología y la respuesta inmune en el paciente con FDH.

La mayor parte de los efectos adversos de la pentoxifilina se localizan en el tracto gastrointestinal y en el sistema nervioso central.

Los síntomas más frecuentes son: dispepsia, náuseas, vómitos, flatulencia, cefalea, todo ello dosis-dependiente. Las complicaciones cardiovasculares son mínimas.

No suelen observarse alteraciones de laboratorio exceptuando el descenso del fibrinógeno plasmático (20).

La pentoxifilina puede considerarse un complemento terapéutico muy eficaz en ciertas patologías debido pues a su acción hemorreológica, protectora del endotelio, inmunomoduladora, antiinflamatoria y reguladora de la hipercoagulabilidad.

## 5. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La enfermedad varía clínicamente desde una forma benigna, inaparente, de fiebre indiferenciada y auto limitante FD hasta formas más severas conocidas FDH/SSD y unas manifestaciones inusuales que como Hepatitis fulminante, Encefalitis y Miocarditis han sido descritas en los últimos años.

Estas formas clínicas pueden ser producidas por cualquiera de los cuatro serotipos de VD. La FD se presenta generalmente en niños, jóvenes y adultos. Sin embargo, las características clínicas pueden variar con la edad del paciente. En lactantes y pre-escolares se presentan formas variables de leve a severa, en niños y jóvenes pueden ser manifestaciones ligeras y en adulto mayor el cuadro clínico es más acentuado.

El SSD, es la forma más severa de la enfermedad, se caracteriza por postración e irritabilidad, choque con extremidades frías por insuficiencia vascular periférica, hipotensión creciente hasta hacerse imperceptible, taquicardia, respiración rápida, pulso rápido y débil. La OMS ha propuesto criterios clínicos y de laboratorio para la clasificación de acuerdo con los estudios clínicos y epidemiológicos de casos de FDH / SSD en niños del sudeste Asiático. Sin embargo, no pueden ser aplicables a todos los casos en las distintas regiones del mundo (27).

De acuerdo a las guías de la OMS los casos de dengue se pueden agrupar en cualquiera de los 4 criterios siguientes:

- Fiebre o historia de fiebre en los últimos 2 a 7 días.
- Evidencia de Tendencias Hemorrágicas por una de los siguientes puntos: prueba de torniquete positiva.
- Trombocitopenia plaquetas 100000/ mm<sup>3</sup> o menos.
- Hemoconcentración (20% o mas hematocrito por encima del valor normal para sexo, edad) o evidencia de fuga vascular (ejemplo derrame pleural, ascitis y/o hipoproteïnemia).

El Dengue Hemorrágico se clasifica en 4 grados de severidad.

Grado I: La única manifestación hemorrágica es una prueba de torniquete positiva.

Grado II: Sangrado espontáneo usualmente en piel aunque puede estar presente en nariz y en órganos internos.

Grado III: Hipotensión para la edad, presión de pulso estrecha, pulso débil.

Grado IV: Choque profundo con presión sanguínea o pulso indetectable. Los Grados III y IV constituyen SSD (27).

## 6. METODOLOGÍA

Estudio prospectivo, aleatorizado doble ciego realizado en el Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de Neiva. El protocolo de investigación del estudio fue revisado y aprobado por los Comités de ética del Hospital y la Universidad Surcolombiana, se obtuvo un consentimiento informado escrito de todos los padres o representantes legales de los participantes.

### 6.1 PACIENTES

Entre abril y Agosto de 2009, fueron enrolados al estudio 55 pacientes entre 7 meses y 13 años con diagnóstico clínico de Dengue Hemorrágico admitidos en el servicio de pediatría. El diagnóstico de FDH para criterio de inclusión fue basado en la definición de caso de la OMS.

**6.1.1 Monitorización del paciente.** Durante el estudio se llevó un registro médico diariamente desde el día del ingreso hasta su regreso. Los laboratorios que complementaron el manejo clínico incluyeron cuadro hemático, pruebas de coagulación, pruebas de función hepática, CPK, CPK MB. A todos los pacientes les fue realizado radiografía de tórax.

**6.1.2 Recolección de muestras.** Las muestras para TNF  $\alpha$  fueron tomadas en la fase aguda de la enfermedad (día del ingreso: día 0, día 1 y día 2) Técnica ELISA SANDWICH (QUANTIKIME).

Fase sólida, fijación al soporte insoluble de anticuerpos poli clónales contra el TNF  $\alpha$  Lavado para eliminar los anticuerpos fijados deficientemente o no fijados.

Adición de la muestra (suero del paciente) para que el TNF  $\alpha$  presente reaccione con los anticuerpos fijados en la fase sólida. Lavado para eliminar los antígenos que no hayan reaccionado y los restos de la muestra no fijados.

Adición de anticuerpos específicos monoclonales contra el TNF  $\alpha$ , conjugados con una enzima, los cuales reaccionan con los antígenos añadidos con la muestra y que se encuentran fijados a los anticuerpos. Lavado para eliminar los anticuerpos marcados que no hayan reaccionado.

Adición de un sustrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Detener la reacción cuando se desee.

La intensidad de color se lee en lector para Elisa a una longitud de onda de 450, el día 6 de enfermedad fue tomada muestra para Ig M dengue Técnica ELISA (PANBIO). A todos los pacientes les fue realizado NS1 al momento del ingreso, Técnica ELISA SANDWICH (BIO-RAE)

## **6.2 MÉTODOS ESTADÍSTICOS**

Se utilizó para comparar las proporciones de mejoría de los dos grupos la prueba de chi cuadrado y para comparar promedios la prueba t de Student y U de Mann-Whitney, con el software GraphPrism versión 4.

### **6.2.1 Definiciones**

Día 1: Día que según calendario inició la fiebre por Historia clínica.

Día 0: Día de la defervescencia, días anteriores y posteriores se denominan -1, -2 y +1, +2 respectivamente.

Índice de efusión pleural: Definido por % de derrame pleural determinado en Rx de tórax decúbito lateral derecho.

Máximo porcentaje de hemoconcentración: Definido por hematocrito.

**6.2.2 Categoría Clínica.** Los pacientes serán clasificados en dengue Hemorrágico de acuerdo a la clasificación de caso de OMS de I a IV.

Fiebre Dengue Hemorrágico: Recuento de plaquetas menor a 100000, y hemoconcentración alrededor de la defervescencia máximo del 20% o derrame pleural > 1% en la radiografía lateral de Tórax.

## **6.3 DEFINICIÓN DE VARIABLES**

**6.3.1 Edad.** Definición conceptual. Cantidad de meses cumplidos a la fecha de aplicación del estudio.

Dimensión: El numero de meses cumplidos.

Indicador: Cálculo a partir de fecha de nacimiento en su documento de identidad.

Instrumento: Formulario previamente diseñado para el estudio (Anexo 5).  
Tipo de Variable: Nominal.

### 6.3.2 Sexo

- Definición conceptual: determinación de género.
- Dimensión: Masculino, femenino.
- Indicador: variable dicotómica a partir de género
- Instrumento: examen físico validado por documento de identidad.
- Tipo de Variable: Dicotómica.

### 6.3.3 Procedencia

- Definición conceptual: determinación de lugar donde vive paciente.
- Dimensión: localización geográfica de lugar de procedencia
- Indicador: lugar geográfico utilizando mapas locales.
- Instrumento: Formulario estudio.
- Tipo de Variable: Cualitativa.

## 6.4 DEFINICIÓN DENGUE HEMORRÁGICO

**6.4.1 Definición conceptual.** Persona que presenta Fiebre de 2 a 7 días de evolución y dos o más de las siguientes manifestaciones: sensación de escalofríos, cefaleas, dolor retro orbital, dolor dorsal, artralgias, anorexia, debilidad, postración, náuseas, vómitos, malestar epigástrico, hiperestesia cutánea, mialgias, erupción o manifestaciones hemorrágicas como: prueba de torniquete positiva, petequias, equimosis o púrpura, hemorragias de las mucosas, hemorragia gingival, del tracto gastrointestinal, de los lugares de punción u otras. Además los siguientes hallazgos:

- Prueba de Ig M positiva sobre una muestra de suero única tomada en fase aguda tardía o en convalecencia.
- Aislamiento viral sobre muestra de suero tomada durante las 72 horas del inicio del cuadro febril.
- Trombocitopenia: recuento de plaquetas inferior a 100000/mm<sup>3</sup> o menos de 3-8 días después del inicio de la enfermedad

- Hemoconcentración: elevación del hematocrito en un 20% o más del valor de recuperación o normal (del 4° al 5° día del inicio de los síntomas) y disminución de al menos un 20% en el periodo de convalecencia.
- Dimensión: Diagnóstico de FDH.
- Indicador: definición de caso de dengue a partir de criterios clínicos, epidemiológicos, serológicos.
- Instrumento: historia clínica, antecedentes, examen físico.
- Tipo de Variable: Cualitativa.

#### **6.4.2 Grado de FDH.**

Definición conceptual. Paciente con diagnóstico de FDH se puede clasificar en:

- Grado I: fiebre, síntomas generales, prueba de torniquete positiva, hemoconcentración, trombocitopenia.
- Grado II: Grado I más sangrado espontáneo (piel, encías, aparato digestivo), trombocitopenia, hemoconcentración.
- Grado III: Grado II más falla circulatoria y agitación, hemoconcentración, trombocitopenia.
- Grado IV: Grado III más choque profundo, hemoconcentración, trombocitopenia.
- Dimensión: estadificación de dengue hemorrágico.
- Indicador: estadificación a partir de criterios anteriormente dados.
- Instrumento: historia clínica, antecedentes y examen físico.
- Tipo de Variable: Cualitativa, nominal dependiente.

**6.4.3 Aspectos Éticos.** Este ensayo clínico es realizado teniendo en cuenta los criterios establecidos por declaración de Helsinki, respetando los principios determinados en el reporte Belmont (28,29).

- Respeto a las personas.
- Beneficencia.
- Justicia.

Es requisito para el ingreso al estudio la firma del consentimiento informado por parte de padres o cuidadores legales.

Se tuvieron en cuenta las consideraciones establecidas en la Resolución 8490 de 1993 del Ministerio de la Protección Social Capítulos 1 y 3 (30, 31).

Actualmente no existen estudios que establezcan ventajas de la pentoxifilina como tratamiento del FDH respetando de esta forma la equidad.

Existen reportes de trabajos con pentoxifilina realizados en humanos y específicamente en niños con un buen margen de seguridad, así como estudios de seguimiento para dengue hemorrágico (32-38) (Anexos D y E).

El Protocolo será sometido a consideración por parte del comité de Ética del Hospital Universitario Hernando Moncaleano y de la Facultad de Salud de Universidad Surcolombiana de Neiva.

No existen conflictos de interés puesto que el estudio no ha sido financiado por ninguna casa farmacéutica.

## 7. RESULTADOS

Durante el periodo abril- agosto de 2009 fueron reclutados 55 pacientes 28 de ellos correspondieron al grupo denominado de pentoxifilina y los restantes 27 estuvieron en el grupo control.

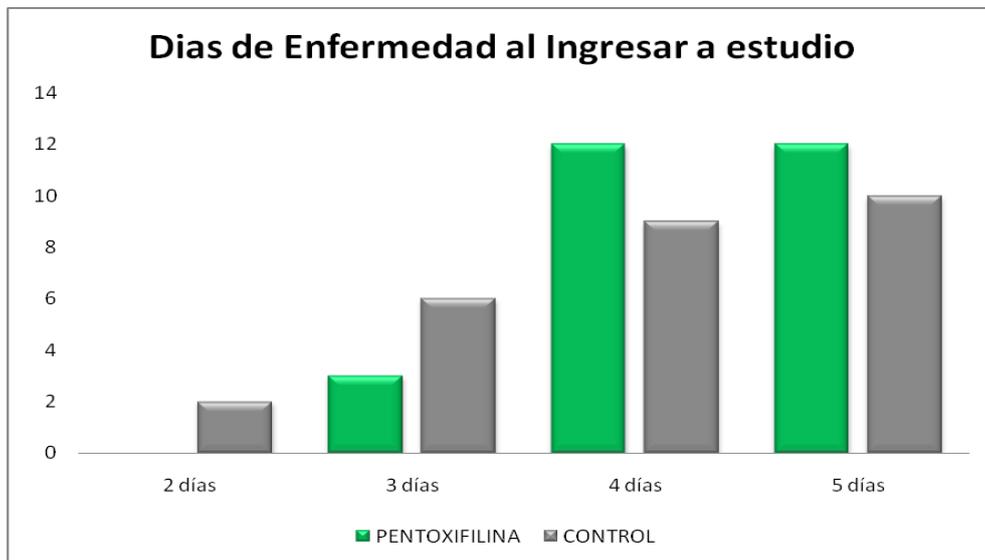
Los datos de la tabla 1, muestran homogeneidad en los dos grupos tanto en promedio de edad (escolares) como de género.

**Tabla 1.** Características generales de Pacientes con Dengue durante el periodo Abril –Agosto 2009.

	<b>PENTOXIFILINA</b>	<b>CONTROL</b>
<b>EDAD</b>		
<=1 año	3(10%)	4(14%)
2- 5 años	13(46%)	10(37%)
6- 10 años	12(42%)	9(33%)
11-13 años	0	4(14%)
<b>PROMEDIO EDAD /AÑOS</b>	4,8 años ± 2,85	5,75 años ± 3,75
<b>SEXO</b>		
Femenino	15(53%)	16(57%)
Masculino	13(46%)	11(39%)
<b>CLASIFICACION DENGUE AL INGRESO</b>		
II	12(42,5%)	15(55,5%)
III	16(57,5%)	11(40,7%)
IV	0	1(3,7%)
<b>DIAS DE ENFERMEDAD AL INGRESO</b>		
2 días	0	2(7,4%)
3 días	4(10%)	6(22,2%)
4 días	12(42%)	9(33,3%)
5 días	12(42%)	10(37,03%)

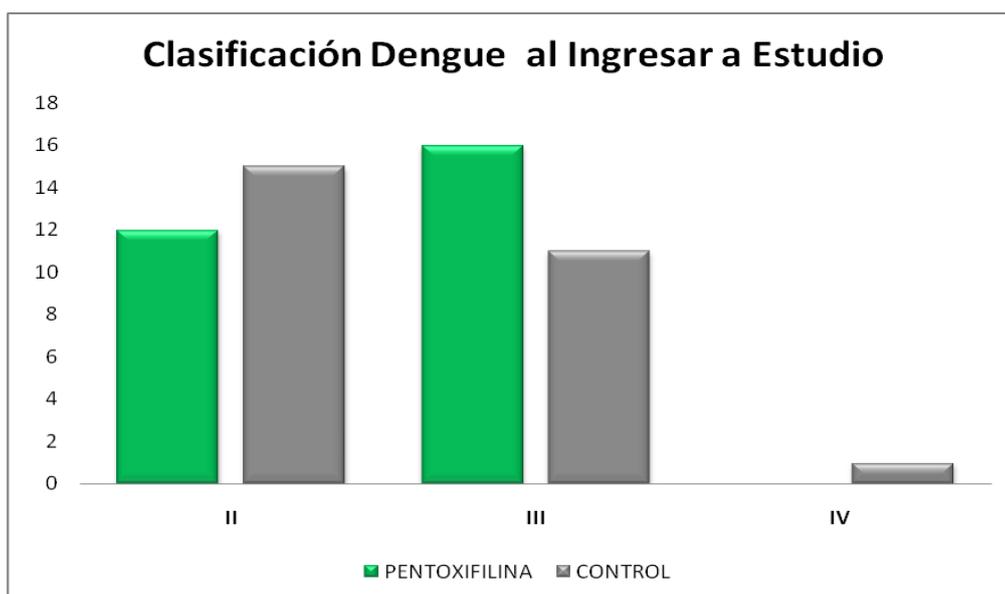
En ambos grupos la mayor parte de ingresos al estudio se presentó en los días 4 y 5 de enfermedad figura 1.

**Figura 1.** Días de enfermedad en el momento de ingresar al estudio.



El Hospital Universitario de Neiva es centro de referencia de la región Sur colombiana y por lo tanto de III y IV nivel de atención, donde como es de esperarse, se reciben los pacientes con cuadro de choque como lo encontrado en el estudio en el que 28 pacientes (51%) correspondían a este grupo. Un solo paciente ingreso en choque profundo (IV) y ningún caso de mortalidad fue encontrado figura 2.

**Figura 2.** Clasificación del Dengue al ingresar al estudio según OMS



La tabla 2 muestra el tiempo de estancia y desenlace de los pacientes, el promedio de niveles de TNF  $\alpha$  y las desviaciones estándar para pacientes dengue III o severo en cada uno de los grupos durante los 3 días de evaluación. Se destaca que el promedio de días de enfermedad al ingreso es de 4.5 días, es decir durante el fin de la fase febril y el inicio de complicaciones o fase crítica como se describe en la literatura.

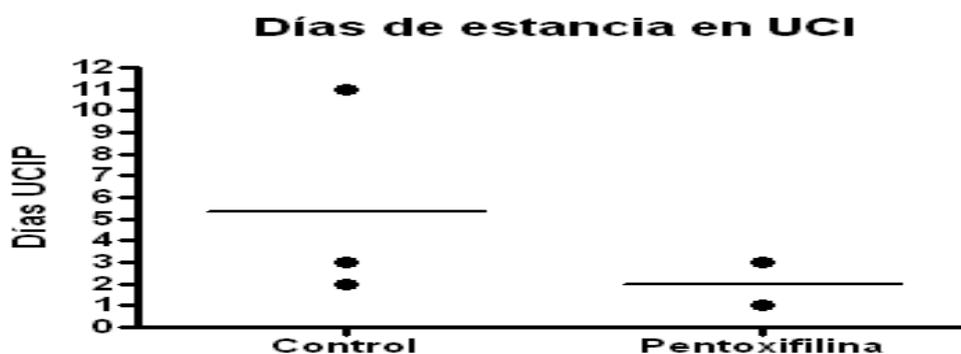
**Tabla 2.** Estancia Hospitalaria y Niveles de TNF  $\alpha$  de Pacientes con Dengue durante el periodo Abril –Agosto 2009.

	PENTOXIFILINA	CONTROL
Promedio estancia	4	4
Ingresos a UCIP	2(7%)	3 (11%)
Promedio estancia UCIP	2	5,3
Serología IGM positiva	28(100%)	27(100%)
Muertes	0	0
TNF $\alpha$ Promedio DIA 0	32 pg/ml	45,2pg/ml
DS	39,4	60,6
TNF $\alpha$ Promedio DIA 1	16,5pg/ml	31,8pg/ml
DS	14,3	41,1
TNF $\alpha$ Promedio DIA2	16,7pg/ml	25,7pg/ml
DS	13,9	35,3

El promedio de estancia Hospitalaria fue de 4 días para ambos grupos.

El ingreso a la unidad de cuidado crítico fue 2(7%) en el grupo con pentoxifilina vs 3(11%) en el grupo control de la misma forma se observó una reducción en el promedio de estancia en UCIP 2 días vs 5,3 días.

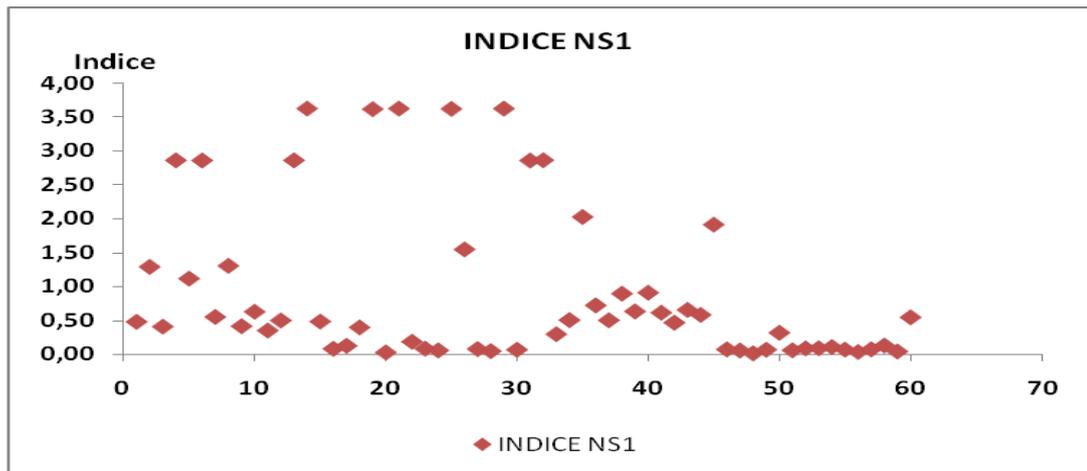
**Figura 3.** Comparación de días estancia en UCI Pacientes Pentoxifilina vs Control



Los estudios diagnósticos para estos pacientes mostraron serología de Ig M positiva para el 100% de los casos.

Las cifras de NS1 fueron positivas para quienes ingresaron en 3 día o menos de evolución de la enfermedad 14 pacientes (24%).

**Figura 4.** Niveles de NS1 en todos los grupos.

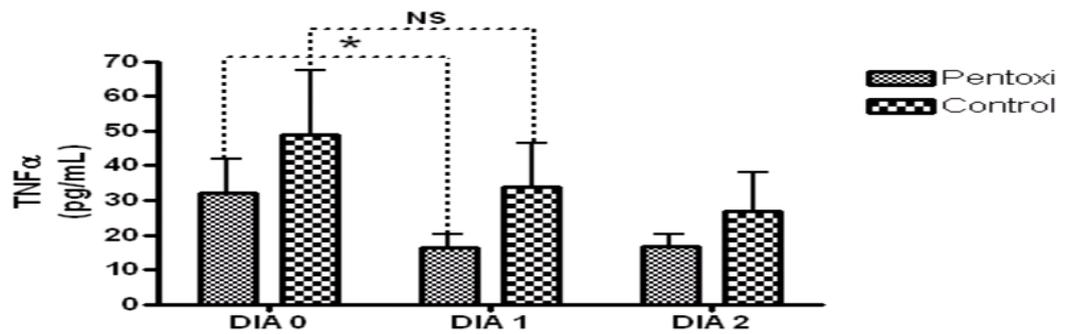


La emesis se presentó como principal efecto secundario, lo cual se encuentra previsto para el medicamento. Durante el estudio no se presentó ningún caso de mortalidad.

En cuanto a niveles de TNF  $\square$  se encontró una disminución estadísticamente significativa de niveles en el grupo pentoxifilina en pacientes dengue III ( $p=0.003$ ) Figura 5

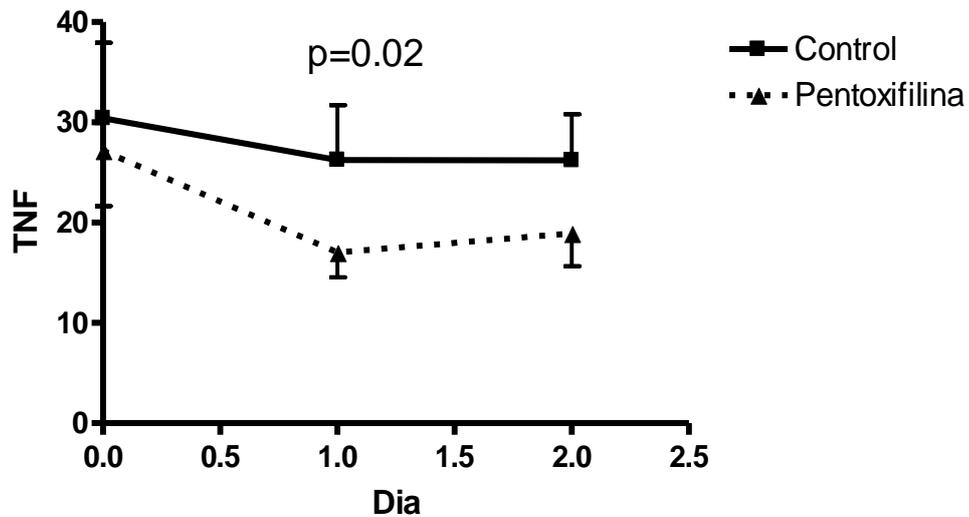
**Figura 5.** Comparación de valores de TNF en pacientes con FDH grado III Vs controles

**COMPARACIÓN VALORES DE TNF $\alpha$  EN PACIENTES CON FDH GRADO III Vs. CONTROLES**



Se observó una tendencia a la reducción de valores de TNF  $\alpha$  en todos los casos en que el medicamento fue administrado ( $p=0,02$ )

**Figura 6.** Tendencia diaria de niveles de TNF $\alpha$  □ □ Grupo Pentoxifilina vs Control



## 8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En la patogénesis del dengue la producción de citoquinas proinflamatorias y su acción directa sobre el endotelio con la correspondiente fuga vascular se ha podido demostrar, es el caso del TNF  $\alpha$ , cuyos valores elevados se han relacionado especialmente con los cuadros de la FDH y choque (39-41)

En estudios comparativos entre cuadros severos y leves se ha comprobado que efectivamente los niveles de esta citoquina están más elevados en el primer caso (42-45), acompañando el final de la fase febril y el inicio de la defervescencia.

El TNF  $\alpha$  además contribuye a daño celular a través de apoptosis y es capaz de activar la coagulación y producir sangrados entre otras acciones.

Estudios previos del uso de medicamentos bloqueadores del TNF  $\alpha$  como la pentoxifilina, en diferentes patologías, como sepsis y disfunción multi orgánica incluso en pacientes pediátricos prematuros, ha mostrado resultados promisorios tales como, disminución de mortalidad y estancias hospitalarias.

No se demostró que este medicamento tenga efectos secundarios graves, o que empeoren la situación de los pacientes.

El planteamiento del uso de bloqueadores del TNF  $\alpha$  durante la fase febril de la enfermedad se han descrito previamente Libraty en 2002.

Las dosis de la pentoxifilina recomendadas en los estudios (Lauterbach et al 1999, Eichenwald et al 1996, Bacher et al 1997, Haque K2003, Ryszard 1996) de 5 mg/kg/hora durante 6 horas no fueron las usadas en este estudio, dada la presencia de vomito que fue referido como efecto secundario, se disminuyeron hasta llegar a las que se usaron es decir 12,5 mg/kg/día con las cuales este efecto desapareció y fue la suministrada los pacientes.

Teniendo en cuenta que la integración clínica y los hallazgos de laboratorio son fundamentales en el desarrollo de medicamentos y esquemas terapéuticos podemos considerar a la pentoxifilina que tiene propiedades anti TNF  $\alpha$  y ha sido utilizada en otras formas de lesiones vasculíticas e incluso en choque en recién nacidos con pocos efectos secundarios como una de estas alternativas de tratamiento.

Es muy interesante el hallazgo en este estudio de la disminución estadísticamente significativa de valores de TNF $\alpha$  con la administración de pentoxifilina en los pacientes con cuadros severos (Dengue grado III  $p=0.003$ ), y la tendencia a la reducción de valores de TNF $\alpha$  en todos los casos en que el medicamento fue administrado ( $p=0,02$ ). Encontrándose además una relación una evolución clínica más favorable demostrada con reducción de estancias e ingresos a UCI.

El tamaño de la muestra plantea la necesidad del desarrollo de estudios más grande que permitan refrendar estos datos.

Se corrobora en primera instancia que la pentoxifilina si disminuye los valores de TNF $\alpha$ , como se encuentra descrito en la literatura, siendo esta disminución clara entre los días cuarto y quinto de enfermedad, perfilándose como una estrategia útil para el manejo de los pacientes, pero que su uso tardío no cambia de manera significativa el abordaje usual de FDH.

Por lo anterior podemos concluir que teniendo en cuenta la fisiopatología del dengue y el papel del TNF $\alpha$  en el daño tisular durante la enfermedad, la pentoxifilina se presenta como una medida terapéutica costo- efectiva durante la fase aguda del dengue severo es decir antes de iniciarse la defervescencia, permitiendo reducción de complicaciones y muerte.

## BIBLIOGRAFIA

1. WHO (World Health Organization). WHO Report on Global Surveillance of Epidemic-prone Infectious Diseases - Dengue and dengue hemorrhagic fever 2007..
2. SALGADO D, RODRÍGUEZ J, GARZÓN M, CIFUENTES G, IBARRA M, VEGA R y CASTRO D. Caracterización Clínica y Epidemiológica de Dengue Hemorrágico en Neiva, Colombia, 2004 Rev. salud pública. 9 (1):53-63 2007.
3. IQUEN. INAS Colombia.
4. VILLAR L, Infectio. Bogotá, D.C: v.12, n.1, Editorial
5. ROTHMAN A. Dengue: Defining protective versus pathologic immunity. J Clin Invest. 2004; 113: 946-51.
6. GUBLER, DJ and GG Clark. 1995. Dengue/Dengue hemorrhagic fever: The emergence of a global health problem. Emerg. Infect. Diseases 1: 55-57.
7. LIN CF, Lei HY, Liu CC, et al. Generation of IgM anti-platelet autoantibody in dengue patients. J Med Virol 2001; 63:143–9.
8. HALSTEAD S Dengue Lancet 2007; 370: 1644–52.
9. Huang YH, Lei HY, Liu HS et al. Dengue virus infects human endothelial cell and induces IL-6 and IL-8 production. Am J Trop Med Hyg. 2000; 63: 71–5.
10. CHATURVEDI UC, Elbishbishi EA, Agarwal R et al. Sequential production of cytokines by dengue virus-infected human peripheral blood leukocyte cultures. J Med Virol. 1999; 59: 335–40.
11. CLYDE K, Kyle J, and Harris E. . Recent Advances in Deciphering viral and Host Determinants of Dengue Virus Replication and Pathogenesis, J of Virology ; 2006: 11418-11431.
12. CITARELLA F, Felici A, BROUWER M, WAGSTAFF J, Fantoni A, Hack CE. Interleukin-6 downregulates factor XII production by human hepatoma cell line (HepG2). Blood. 1997; 90:1501–1507.
13. ANDERSON R., S. WANG, C. OSIOWY, and A. C. Issekutz. . Activation of endothelial cells via antibody-enhanced dengue virus infection of peripheral blood monocytes. J. Virol. 1997; 71:4226–4232.

14. CARDIER, J. E., E. MARINO, E. ROMANO, P. TAYLOR, F. Liprandi, N. Bosch, and A. L. Rothman. Proinflammatory factors present in sera from patients with acute dengue infection induce activation and apoptosis of human microvascular endothelial cells: possible role, *Cytokine* 2005; 30: 359-365.
15. BRAGA, E L, P. MOURA, L. M. PINTO, S. R. Ignacio, M. J. Oliveira, M. T. Cordeiro, and C. F. Kubelka. Detection of circulant tumor necrosis factor-alpha, soluble tumor necrosis factor p75 and interferon-gamma in Brazilian patients with dengue fever and dengue hemorrhagic fever. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2001; 96:229–232.
16. CHEN L C, H Y Lei, C C Liu, S C SHIESH, S H Chen, H S Liu, Y S Lin, S T Wang, H W Shyu, and T M. Yeh. Correlation of serum levels of macrophage migration inhibitory factor with disease severity and clinical outcome in dengue patients. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2006; 74:142–147.
17. SALYER JL, BOHNSACK JF, KNAPE WA et al. Mechanisms of tumor necrosis factor-& alteration of PMN adhesion and migration. *Am J Pathol* 1990; 136: 831-41.
18. MANGADA MAND, Rothman Altered Cytokine Responses of Dengue-Specific CD4\_ T Cells to Heterologous Serotypes1 *The Journal of Immunology* 2005; 175: 2676–2683.
19. ALENA Atrasheuskaya a, Peter Petzelbauer b, Terry M.Fredeking c, George Ignatyev Anti-TNF antibody treatment reduces mortality in in experimental dengue virus infection *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2003; 35 :33-42.
20. PORSCHE E, Stefanovich V. The influence of pentoxifylline on ATPase activity of human erythrocyte membranes. *IRCS J Med Sci* 1978; 6: 285.
21. WARD A, Clissold SP. Pentoxifylline: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and its therapeutic efficacy. *Drugs* 1987; 34: 50-97.
22. SCHÖNHARTING M, Musikic P, Müller R. The haemorheological and antithrombotic potential of pentoxifylline (Trental): a review. *Pharmaterapeutica* 1988; 5: 59-69.
23. COIMBRA R, MD Melbostad H, y Hoyt David, Effects of Phosphodiesterase Inhibition on the Inflammatory Response after Shock: Role of Pentoxifylline *J Trauma*. 2004; 56:442–449.

24. BERMAN B, DUNCAN MR. Pentoxifylline inhibits normal human fibroblast in vitro proliferation, collagen, glycosaminoglycan, and fibronectin production, and increases collagenase activity. *J Invest Dermatol* 1989; 92: 605-10.
25. BERMAN B, WIETZERBIN J, SANCEU J et al. Pentoxifylline inhibits certain constitutive and tumour necrosis- factoralfa induced activities of human normal dermal fibroblasts. *J Invest Dermatol* 1992; 98: 706-12.
26. DUNCAN MR, HASAN A, BERMAN B. Pentoxifylline, Pentifylline and Interferons decrease type I and III procollagen mRNA levels in dermal fibroblasts: evidence for mediation by nuclear factor 1 down-regulation. *J Invest Dermatol*; 1995: 104(2): 282-286
27. SHIBANI Bandyopadhyay, Lucy C. S. Lum and Axel Kroeger Classifying dengue: a review of the difficulties in using the WHO case classification for dengue haemorrhagic fever *Trop Med Hyg* 2006; 11: 1238–1255.
28. REPORTE BELMONT: Principios Éticos y Directrices para la Protección de Sujetos Humanos de Investigación.
29. Declaración de Helsinki Finlandia 1964.
30. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Resolución 8490 de 1993 del.
31. SINGHI S, KISSOON N, BANSAL A Dengue and dengue hemorrhagic fever: management issues in an intensive care unit *Jornal de Pediatría*. 2007; 83, No.2 (Suppl).
32. WILLS B, Dung N, Loan H, Dong T.H. Tam. Thuy T. Minh L, Tran V. Diet, M. D .Hao N, M. D. Chau N, Stepniewska K, White N, and Farrar J, Comparison of Three Fluid Solutions for Resuscitation in Dengue Shock Syndrome *N Engl J Med* 2005; 353:877-89.
33. RANJIT S, KISSOON N, GANDHI D, ANJUL DAYAL, RAJESHWARI N, and KAMATH S, Early Differentiation Between Dengue and Septic Shock by Comparison of Admission Hemodynamic, Clinical, and Laboratory Variables A Pilot Study. *Pediatric Emergency Care*; 2007: 23: 368-375.
34. CHAKRAVARTI A & KUMARIA R Circulating levels of tumour necrosis factor- $\alpha$  & interferon- $\gamma$  in patients with dengue & dengue

- haemorrhagic fever during an outbreak Indian J Med; 2006: 123: 25-30.
35. RANJIT S; Kissoon N; Jayakumar I, Aggressive management of dengue shock syndrome may decrease mortality rate: A suggested protocol *Pediatr Crit Care Med* ;2005: 6: 4-10
  36. MANGADA MAND Rothman Altered Cytokine Responses of Dengue-Specific CD4<sub>+</sub> T Cells to Heterologous Serotypes1 *The Journal of Immunology* 2005; 175: 2676–2683.
  37. SALGADO D, GARZÓN M, VEGA MR, PANQUEBA C, CASTRO D. Mortalidad por fiebre dengue hemorrágico en niños: más allá del choque. *Infectio. Bogotá, D.C*, v.12, n.1, p.249 - 255, 2008.
  38. LAUR F, Murgue B, Deparis X, Roche C, Cassar O, Chungue E . Plasma levels of tumour necrosis factor alpha and transforming growth factor beta-1 in children with dengue 2 virus infection in French Polynesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* ; 1998 : 92:654–656.
  39. AVIRUTNAN P, Punyadee N, NOISAKRAN S, KOMOLTRI C, Thiemmecca S, Auethavornanan K, Jairungsri A, Kanlaya R, Tangthawornchaikul N, Puttikhunt C et al. Vascular leakage in severe dengue virus infections: a potential role for the nonstructural viral protein NS1 and complement. *J Infect Dis* 2006: 193:1078–1088
  40. WANG L, Chen RF, Liu JW, Yu HR, Kuo HC, Yang KD. Implications of dynamic changes among tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), membrane TNF receptor, and soluble TNF receptor levels in regard to the severity of dengue infection. *Am J Trop Med Hyg*; 2001: 77:297–302
  41. BRAGA EL, Moura P, Pinto LM, Ignacio SR, Oliveira MJ, Cordeiro MT, Kubelka CF .Detection of circulating tumor necrosis factor-alpha, soluble tumor necrosis factor p75 and interferon-gamma in Brazilian patients with dengue fever and dengue hemorrhagic fever. *Mem Inst Oswaldo Cruz* ; 2001:96:229–232
  42. AVILA-AGUERO ML, Avila-Aguero CR, Um SL, Soriano-Fallas A, Canas-Coto A, Yan SB .Systemic host inflammatory and coagulation response in the Dengue virus primo-infection. *Cytokine*; 2004: 27:173–179
  43. KURANE I, Innis BL, Nimmannitya S, Nisalak A, Meager A, Janus J, Ennis FA. 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: 88:1473–1480

44. BOZZA FA, CRUZ OG, Zagne SM, Azeredo EL, Nogueira RM, Assis EF, Bozza PT, Kubelka CF Multiplex cytokine profile from dengue patients: MIP-1beta and IFN-gamma as predictive factors for severity. BMC Infect Dis; 2008:86-91

# ANEXOS

## **Anexo A. Aprobación del Comité de Ética y Consentimiento Informado**

Este estudio y su consentimiento informado fueron presentados ante el Comité de Ética del Hospital Universitario Hernando Moncaleano, se tuvieron en cuenta las consideraciones establecidas en la Declaración de Helsinki y Resolución 8490 de 1993 del Ministerio de la Protección Social Capítulos 1 y 3.

Requisito para el ingreso al estudio fue la firma del consentimiento informado por parte de padres o cuidadores legales, la cual fue realizada al momento de ingresar a la Institución por parte de un miembro del estudio quien explica objetivos del estudio, procedimientos e intervenciones del mismo, además aclara las dudas surgidas. Un criterio de exclusión es negación a firmar el consentimiento.

### **Uso de Pentoxifilina para la modulación de la respuesta inmune en Población Pediátrica con Dengue Hemorrágico.**

#### **Consentimiento Informado**

Estimado padre o representante legal,

Su médico quiere invitarlo a participar de un estudio de investigación para el tratamiento del dengue hemorrágico. Su médico no recibirá una retribución económica por los servicios prestados durante el estudio.

A continuación se describen los objetivos del estudio:

#### **Objetivo General**

Establecer la eficacia de la Pentoxifilina para la modulación de la respuesta inmune en pacientes pediátricos con dengue Hemorrágico.

#### **Objetivos Específicos**

- Establecer la eficacia de la Pentoxifilina para la reducción del daño vascular en pacientes con FDH.
- Relacionar las concentraciones de TNF  $\alpha$ , con las diferentes fases del dengue hemorrágico y su afectación con el uso de Pentoxifilina.
- Comprobar la reducción de niveles de TNF  $\alpha$  con Pentoxifilina en pacientes con FDH.

Versión Español Colombia	Comité de Ética Aprobado:
Página 1/2	
Confidencial	

**Uso de Pentoxifilina para la modulación de la respuesta inmune en Población Pediátrica con Dengue Hemorrágico.**

**Consentimiento Informado**

Yo \_\_\_\_\_

—

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado

con \_\_\_\_\_

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1. Cuando quiera
2. Sin tener que dar explicaciones
3. Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para que mí

Hijo (a) \_\_\_\_\_ participe en el ensayo

Fecha: \_\_\_\_\_

Firma del acudiente o padre del participante en el estudio \_\_\_\_\_

Testigo 1.Nombre	Testigo 2: Nombre
Firma	Firma
CC: No	CC: No

<table border="1"> <tr> <td> <table border="1"> <tr> <td>Versión Español Colombia</td> <td rowspan="3">Comité de Ética Aprobado:</td> </tr> <tr> <td>Página 2/2</td> </tr> <tr> <td>Confidencial</td> </tr> </table> </td> </tr> </table>	<table border="1"> <tr> <td>Versión Español Colombia</td> <td rowspan="3">Comité de Ética Aprobado:</td> </tr> <tr> <td>Página 2/2</td> </tr> <tr> <td>Confidencial</td> </tr> </table>	Versión Español Colombia	Comité de Ética Aprobado:	Página 2/2	Confidencial
<table border="1"> <tr> <td>Versión Español Colombia</td> <td rowspan="3">Comité de Ética Aprobado:</td> </tr> <tr> <td>Página 2/2</td> </tr> <tr> <td>Confidencial</td> </tr> </table>	Versión Español Colombia	Comité de Ética Aprobado:		Página 2/2	Confidencial
Versión Español Colombia	Comité de Ética Aprobado:				
Página 2/2					
Confidencial					

**Anexo B.** Uso de Pentoxifilina para la modulación de la respuesta inmune en Población Pediátrica con Dengue Hemorrágico.

**Listado de Aleatorización**

<b>PACIENTE</b>	<b>HISTORIA CLINICA</b>	<b>PLAN (Anote el plan asignado) A o B</b>
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		
21		
22		
23		
24		
25		
26		
27		
28		
29		
30		
31		
32		
33		
34		
35		
36		

**Anexo C.** Uso de Pentoxifilina para la modulación de la respuesta inmune en Población Pediátrica con Dengue Hemorrágico.

**Registro de administración de Protocolos**

<b>NOMBRE PACIENTE</b>	<b>HC</b>	<b>PROT OC OLO</b>	<b>EDAD MESES</b>	<b>DOSIS 1</b>	<b>REACCION ADVERSA</b>	<b>DOSIS 2</b>	<b>REACCIO N ADVERSA</b>	<b>DOSIS 3</b>	<b>REACCIO N ADVERSA</b>
1		A B		SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO
2		A B		SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO
3		A B		SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO
4		A B		SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO
5		A B		SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO
6		A B		SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO
7		A B		SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO
8		A B		SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO
9		A B		SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO
10		A B		SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO
11		A B		SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO
12.		A B		SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO	SI NO



**Anexo D.** Estudios clínicos que evalúan los efectos de pentoxifilina en enfermedades severas, publicados en la literatura inglesa desde 1996. (24)

<b>ESTUDIO</b>	<b>AÑO</b>	<b>DISEÑO DEL ESTUDIO</b>	<b>EFECTO DE PENTOXIFILINA</b>
Estudio Europeo ptx multiinfarto	1996	Prospectivo, aleatorizado, doble ciego, placebo controlado, multicentrico	Mejora la función intelectual y cognitiva.
Disfunción Eréctil	1996	Prospectivo, aleatorizado, doble ciego, placebo controlado	Incremento del flujo sanguíneo en el pene
Sepsis en Prematuros	1996	Prospectivo, aleatorizado, doble ciego, placebo controlado	Inhibe producción de TNF, disminuye mortalidad. Disminuye incidencia de acidosis metabólica, enterocolitis e insuficiencia renal
Oxigenación y Hemodinamico en Sepsis	1997	Ensayo prospectivo clínico.	No efectos adversos del uso de PTX
Sepsis, disfunción orgánica y supervivencia	1998	Prospectivo, aleatorizado, doble ciego, placebo controlado	Disminuye mortalidad hospitalaria, disminuye puntuación DOM.
Flujo Sanguíneo coroidal en degeneración macular	1998	Prospectivo, aleatorizado, doble ciego, placebo controlado	No probado
Lepra Lepromatosa	1998	Ensayo prospectivo clínico.	Disminución TNF. Uso en tratamiento conjunto.
Malaria por Plasmodium Falciparum	1998	Prospectivo, aleatorizado, doble ciego, placebo controlado	Disminución TNF, IL-6 y TNF -R tratamiento conjunto.
Incidencia de DOM en el post operatorio de cirugía cardíaca.	1998	Prospectivo, aleatorizado doble ciego, placebo controlado	No efectos adversos significativos.
Esclerosis múltiple	1998	Ensayo prospectivo abierto	Potencial uso en tratamiento conjunto.
Angina estable	1999	Prospectivo, aleatorizado, doble ciego, placebo controlado.	Disminución de neutrófilos desde seno coronario.
Sepsis Neonatal	1999	Prospectivo, aleatorizado, doble ciego, placebo controlado, multicentrico	Reduce mortalidad.
Aloinjerto renal	2000	Prospectivo, r, doble ciego, placebo controlado.	Mejora supervivencia del injerto.
Ulceras venosas en piernas	2000	Prospectivo, doble ciego, aleatorizado placebo controlado.	Mejora vitalidad
Trasplante renal	2000	Prospectivo, doble ciego, aleatorizado placebo controlado.	Efecto protector sobre el injerto.
Hepatitis alcohólica aguda	2001	Prospectivo, aleatorizado, doble ciego, placebo controlado.	Mejora supervivencia, disminuye incidencia

			de síndrome hepatorenal.
DOM después de cirugía cardíaca en el anciano	2001	Prospectivo, aleatorizado, doble ciego, placebo controlado.	Atenúa el deterioro del endotelio, hígado, riñón y perfusión esplácnica.
Peritonitis Perforada	2001	Prospectivo, aleatorizado, doble ciego, placebo controlado.	Disminuye estancia hospitalaria, mejora APACHE II, y disminuye incidencia de infección
Psoriasis	2001	Prospectivo, aleatorizado, doble ciego, placebo controlado.	Potencial tratamiento adjunto
Reacción Leproide	2002	Ensayo fase II	Uso potencial para tratamiento conjunto.
Cardiomiopatía dilatada	2002	Prospectivo, aleatorizado, doble ciego, placebo controlado.	Mejora fracción de eyección ventrículo izquierdo y disminuye mortalidad
Trombosis vena retinal	2002	Prospectivo, aleatorizado, doble ciego, placebo controlado.	Mejora el flujo sanguíneo retinal.
Cardiomiopatía peri parto	2002	Ensayo clínico prospectivo	Factor independiente de resultado, Mejora fracción de eyección ventrículo izquierdo y disminuye mortalidad
Regresión secuelas de radiación uterina	2002	Estudio retrospectivo fase II	Reduce lesión uterina fibropática.
Choque descompensado	2002	Prospectivo, aleatorizado, doble ciego, placebo controlado.	Aumenta fracción de eyección disminuye TNF/Apo – 1

## Anexo E. Revisión de estudios choque dengue hemorrágico

<b>NOMBRE ESTUDIO</b>	<b>AÑO</b>	<b>DISEÑO ESTUDIO</b>	<b>EFEECTO</b>
Comparación de Tres líquidos de Reanimación en Choque Dengue <sup>30</sup>	2005	Doble ciego, aleatorizado, comparativo.	Utilización de Lactato de Ringer en pacientes con Choque dengue durante resucitación.
Factores de Riesgo en pacientes con choque Dengue	2007	Aleatorizado descriptivo	Signos de alarma son el sangrado, hemoconcentración más de 22% e infecciones secundarias.
Relación tamaño corporal y severidad de dengue	2005	Descriptivo.	Obesidad y Serotipo II se relaciono con mayor severidad.
Elevación de trombomodulina soluble como factor predictor de SSD	2006	Prospectivo	Elevación de la TM en fase temprana se relaciona con mayor severidad del SSD
Mecanismos Inmunopatológicos en dengue hemorrágico	2006	Prospectivo	Mecanismos inmunológicos son complejos. Se requiere estudiar más el comportamiento para el desarrollo de vacunas.
Manejo de SSD en UCIP	2007	Descriptivo, revisión sistemática.	No existe protocolo de manejo específico.
Corticoides para SSD	2006	Descriptivo, revisión sistemática.	Evidencia insuficiente de uso en SSD.
Uso facta VII a para manejo de sangrado en SSD.	2005	Prospectivo, aleatorizado.	Factor VII a efectivo en recuperación de homeóstasis.
¿Puede el Hct y Plt al ingreso predecir el Choque dengue?	2006	Retrospectivo descriptivo.	No se puede confiar en estos parámetros al ingreso para definir severidad.

Dengue y choque séptico <sup>31</sup>	2007	Retrospectivo, comparativo.	Menor respuesta inflamatoria sistémica en pacientes con Dengue.
Tratamiento agresivo de SSD reduce mortalidad.	2005	Retrospectivo, descriptivo.	Tratamiento agresivo puede reducir mortalidad.
Transfusiones preventivas en SSD.	2003	Retrospectivo, descriptivo.	No hubo mejoría en pacientes que fueron transfundidos.
Hallazgos clínicos de laboratorio y radiológicos en SSD	2008	Prospectivo descriptivo.	Sangrado aumento del hematocrito y derrames se correlacionan con SSD.
Activación de coagulación y fibrinólisis en Dengue	2001	Prospectivo descriptivo.	Severidad de activación de coagulación y fibrinólisis se relaciona con severidad de enfermedad.
Manejo Agudo del SSD <sup>33</sup>	2001	Prospectivo aleatorizado doble ciego comparativo.	Uso de cristaloides en SSD.
Diagnóstico clínico de dengue y SSD	2007	Prospectivo descriptivo.	SSD no es reconocido fácilmente y esto conlleva a aumento de morbimortalidad.
Dengue hemorrágico y perfil de citoquinas	2004	Prospectivo descriptivo	Sobreproducción de citoquinas pro y anti inflamatorias se relaciona con severidad de FDH

**Anexo F.** Uso de Pentoxifilina para la modulación de la respuesta inmune en Población Pediátrica con Dengue Hemorrágico

**Formato Clínico**

<b>DATOS DE IDENTIFICACION Y EPIDEMIOLOGICOS:</b>										
NOMBRE					HC					
PROCEDENCIA			RURAL	URBANA		EDAD		SEXO		
BARRIO			DIRECCION			TELEFONO				
¿CASOS DE DENGUE EN LA FAMILIA O BARRIO? SI					NO	¿QUIEN?		¿CUANDO?		
<b>DATOS CLINICOS</b>										
FECHA DE HOSPITALIZACION		DIA	MES	AÑO						
DIAS DE FIEBRE		CEFALEA		VOMITOS		MIALGIAS		SANGRADO		DONDE ?
		SI NO		SI NO		SI NO		SI NO		
DOLOR ABDOMINAL		SI		NO		DIF RESPIRATORIA		SI		NO
<b>ANTECEDENTES:</b>										
DENGUE: SI			NO		ALERGICO SI			¿QUE TIPO?		NO
<b>EXAMEN FISICO</b>										
PESO		T°		TA		FC		FR		SATU
PULSOS: FUERTE				DEBIL		LLENADO CAPILAR < 3			> 3 SEG	
AUSENTE						SEG				
HIPOVENTILACION		SI		NO		ASCITIS SI		PETEQUIA SI		
						NO		NO		
TAMAÑO HEPATICO EN CM					SANGRADO SI			CUAL?		
					NO					
PETEQUIAS SI		NO		CONCIENCIA		ALERTA		SOMNOLIENTO		COMA
DIURESES					OTROS:					
<b>LABORATORIOS</b>										
HTO		HB		LEUCOCITOS		LINFOCITOS		PLAQUETAS		
PT				PTT			FECHA			
HTO		HB		LEUCOCITOS		LINFOCITOS		PLAQUETAS		

HTO		HB	LEUCOCITOS	LINFOCITOS	PLAQUETAS
PT			PTT		FECHA
HTO		HB	LEUCOCITOS	LINFOCITOS	PLAQUETAS
PT			PTT		PLAQUETAS
AST	ALT		GLICEMIA	CPKT	CPKMB
EKG:		SI	NO	RESULTADO:	
ECOCARDIOGRAMA:		SI	NO	RESULTADO:	
RX DECUBITO LATERAL DERECHO:					
DENGUE PCR				NS1:	
FECHA:					
IGG 1		IGM	IGG 2	TNF 1:	
TNF 2:			TNF 3:	NS1:	
CLASIFICACION OMS			ORGANO BLANCO		

RECOLECCION DE DATOS POR: \_\_\_\_\_

FECHA \_\_\_\_\_