

Determinación de interferón circulante en sueros de pacientes con dengue. Estudio preliminar

M. SOLER,¹ A. AGUILERA,² G. GUZMÁN¹ y G. KOURÍ¹

¹ Instituto de Medicina Tropical, 15 y 200, Siboney, La Habana 6, Cuba

² Centro de Investigaciones Biológicas, Apartado 6996, La Habana 6, Cuba

Recibido en julio de 1989

Aprobado en febrero de 1990

RESUMEN

En el presente estudio se muestran los resultados obtenidos al determinar la presencia de interferón (IFN) circulante en sueros pareados de 37 personas que resultaron enfermas durante la epidemia de dengue que afectó a Nicaragua en 1985. Diecisiete sueros pareados no presentaron anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación, detectándose IFN en el 47% de ellos. En los restantes 20 pares de sueros fue posible establecer el diagnóstico de la infección por dengue mediante la seroconversión; en el 60% de ellos se detectó presencia de IFN, observándose con más frecuencia en el suero correspondiente a la fase aguda de la enfermedad. Además, se discuten aspectos relacionados con la detección de IFN como indicador de la infección viral y su posible utilización para el diagnóstico.

SUMMARY

The present study shows the obtained results when determining the presence of circulating Interferon (IFN) in paired sera from 37 individuals who contracted Dengue Fever during an epidemic outbreak at Nicaragua in 1985. Seventeen paired sera had no Haemagglutination Inhibition Antibody, finding IFN in 47% of them. In the remaining 20 pairs, the diagnosis of Dengue infection was established through seroconversion.

IFN was detected in 60% of them, more frequently in sera corresponding to the acute phase of the disease. The detection of IFN as an indicator of the viral infection and its possible use with diagnostic purposes are also discussed.

INTRODUCCION

La infección por el virus del dengue provoca manifestaciones clínicas de diferente severidad, constituyendo su forma más grave la fiebre hemorrágica del dengue/Síndrome de choque por dengue (FHD/SCD), que puede provocar la muerte del individuo afectado.

Actualmente esta arbovirosis se encuentra ampliamente distribuida en países de los continentes asiático y americano, constituyendo un serio problema de salud para dichas regiones (Halstead, 1988).

En general, el sistema IFN ha sido poco estudiado en las infecciones provocadas por el virus del dengue (Hotta *et al.*, 1984; Vithanomsat *et al.*, 1984). En Cuba se han realizado algunos trabajos que han incluido aspectos relacionados con la clínica (Limonta *et al.*, 1984) y con estudios en sistemas *in vitro* (Guzmán *et al.*, 1987).

Se conoce que el IFN es producido por las células como respuesta a la infección viral y ha sido detectado en tejidos y fluidos humanos en el transcurso de diferentes infecciones virales (Levin y Hahn, 1981).

El estudio de la presencia de IFN endógeno es importante, si se tiene en cuenta que el análisis de su comportamiento en el transcurso de determinada infección viral puede indicar el mejor momento, así como la dosis más adecuada para suministrar IFN exógeno, cuya utilización se ha intensificado en los últimos tiempos al lograrse su obtención por métodos biotecnológicos. Además, es importante su estudio considerando que el IFN también constituye un regulador del sistema inmune cuyos mecanismos desempeñan un papel fundamental en la etiopatogenia del dengue hemorrágico.

Por otra parte, en los últimos años algunos investigadores han sugerido la posibilidad de utilizar la detección de IFN en el transcurso de una infección viral, como un método más de diagnóstico para este tipo de infecciones (Parry y Parry, 1981; Flowers y Scott, 1985; Skidmore y Jarlow, 1987). Sin embargo, hasta el presente estos estudios no han abarcado la totalidad de los agentes virales que afectan al hombre.

El presente trabajo fue realizado con el objetivo de estudiar el comportamiento del IFN endógeno en individuos afectados por el virus dengue durante la epidemia ocurrida en Nicaragua en 1985.

MATERIALES Y METODOS

El grupo estudiado estuvo constituido por 37 nicaragüenses que presentaron manifestaciones clínicas de infección por el virus dengue. De cada una de estas personas se obtuvo un par de sueros (el primero tomado en la fase aguda y el segundo en la fase convaleciente de la enfermedad). En estos sueros pareados se determinó la presencia de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación a los virus dengue 1 y dengue 2 (Clarke y Casals, 1958).

La determinación de la presencia de IFN en la totalidad de los sueros la realizamos en el Centro de Investigaciones Biológicas, La Habana. Para ello fue utilizado el método de inhibición del efecto citopatogénico del virus mengo en monocapas de

células HEP-2. Los títulos de IFN fueron expresados en unidades internacionales (unidades/ml). Para la identificación del IFN detectado en los sueros se empleó la técnica de neutralización, utilizando para ello un antisuero de referencia contra IFN α (Levis et al., 1984).

RESULTADOS

La actividad antiviral encontrada en los sueros estudiados fue estable a pH 2 y completamente neutralizada por anticuerpos anti IFN α , concluyéndose de esta forma que el IFN circulante presente en dichos sueros puede ser considerado como un típico IFN α .

De los 37 sueros pareados estudiados, 17 no presentaron anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación a los virus dengue 1 y dengue 2; los resultados obtenidos al determinar la presencia de IFN en este grupo son mostrados en la tabla 1, observándose que en ocho de ellos (47%) se detectó la presencia de IFN en alguno de los componentes del par de sueros. En los restantes 20 sueros fue posible establecer el diagnóstico de infección por dengue mediante la seroconversión, elevación significativa de anticuerpos o títulos fijos elevados. En la tabla 2 se muestra el comportamiento de la presencia de IFN en dicho grupo. En ocho de estos sueros pareados (40%) no se detectó presencia de IFN. En los restantes 12 pares de sueros (60%) se encontraron niveles detectables de IFN en alguno de los componentes del par: en nueve de ellos (75%) el IFN fue encontrado en el suero tomado en la fase aguda de la enfermedad; en dos casos (17%) fue encontrado en el suero correspondiente a la fase convaleciente y en un caso (8%) fue detectado en ambos sueros del par.

Tabla 1
NIVELES DE IFN CIRCULANTE EN SUEROS PAREADOS QUE NO PRESENTARON Acs.
INHIBIDORES DE LA HEMAGLUTINACION

Sueros	Título IFN (U.I./ml) (*)	
	1er. suero	2do. suero
17 - 18	40	40
27 - 28	40	-
33 - 34	80	-
35 - 36	-	-
37 - 38	-	-
59 - 60	-	-
61 - 62	-	-
63 - 64	-	160
65 - 66	40	-
67 - 68	160	-
69 - 70	-	160
71 - 72	-	-
73 - 74	-	-
75 - 76	-	-
77 - 78	-	-
79 - 80	-	80
81 - 82	-	-

(*) Expresado como el recíproco de la dilución

Tabla 2
NIVELES DE IFN CIRCULANTE EN SUEROS PAREADOS CON SEROCONVERSION,
ELEVACION SIGNIFICATIVA DE Acs O TITULOS FIJOS ELEVADOS

Sueros	Título IFN (U.I./ml) (*)		Título de Acs IH (*)	
	1er. suero	2do. suero	Dengue 1	Dengue 2
1 - 2	-	40	- / 40	- / 40
3 - 4	160	-	- / 2560	- / 2560
5 - 6	40	60	2560 / 20	2560 / 20
7 - 8	40	-	2560 / -	2560 / -
9 - 10	160	-	- / 320	- / 320
11 - 12	80	-	- / 2560	- / 2560
15 - 16	-	-	- / 640	- / 640
19 - 20	160	-	- / 1280	- / 640
21 - 22	-	-	160 / -	640 / 20
25 - 26	-	40	160 / 80	160 / 160
29 - 30	80	-	- / 160	- / 640
31 - 32	160	-	- / 80	- / 160
39 - 40	40	-	- / 320	- / 640
41 - 42	-	-	- / 320	- / 2560
43 - 44	-	-	160 / 160	160 / 160
45 - 46	-	-	- / 80	- / 40
47 - 48	-	-	1280 / 640	512 / 2560
51 - 52	-	-	- / 1280	20 / 2560
53 - 54	160	-	40 / -	40 / -
55 - 56	-	-	- / 2560	- / 2560

(*) Expresado como el recíproco de la dilución

DISCUSION

A pesar de que los 37 sueros pareados incluidos en el presente estudio fueron obtenidos de individuos con manifestaciones clínicas compatibles con las observadas en infecciones por el virus dengue y que además se presentaron durante el transcurso de una epidemia por dicho agente, 17 de ellos no presentaron seroconversión. Sin embargo, se pudo demostrar la presencia de IFN en 8 de ellos (47%), lo cual indica que estos individuos pudieron haber padecido alguna otra infección viral diferente al dengue y que esta haya sido el verdadero estímulo para la producción de IFN. Es conocido que las manifestaciones clínicas provocadas por el virus dengue son similares a las observadas durante el transcurso de otras infecciones virales, siendo el diagnóstico clínico insuficiente para establecer la verdadera etiología de la enfermedad.

De los 20 sueros pareados restantes que presentaron seroconversión, elevación significativa de anticuerpos o títulos fijos elevados al virus dengue, en 8 de ellos no fue detectada la presencia de IFN. Se ha referido que el IFN no siempre es detectable en sueros de pacientes con enfermedad viral comprobada, a causa de la rápida eliminación del IFN circulante de la sangre (Bocci, 1981). Es posible que en el momento de obtenerse el primer suero de algunos de los pares estudiados, los niveles de IFN en sangre ya hubieran disminuido hasta valores inferiores a 1:40 (límite inferior utilizado en este trabajo), resultando de esta forma no detectable.

Semejante situación subraya la importancia para este tipo de estudio de obtener las muestras lo más rápido posible

después de la aparición de los primeros síntomas de la enfermedad. En los 12 sueros pareados restantes (60%) pudo detectarse IFN, observándose que en 10 de ellos (75%) el IFN fue hallado en el suero correspondiente a la fase aguda.

Estudios previos han demostrado que el IFN puede ser detectado ya desde los primeros momentos de la infección viral, constituyendo de esta forma la primera línea de defensa contra las infecciones virales (Kirchner, 1986). Mientras, el sistema inmune va movilizando a todo el conjunto de elementos que participan en la protección del organismo, los cuales requieren un determinado tiempo para hacerse efectivos y poder enfrentar exitosamente al agente patógeno.

Más adelante, en el transcurso de la infección viral y según se va desencadenando la respuesta inmune, van aumentando los niveles de anticuerpos cuyo efecto neutralizante provoca la eliminación del virus que constituye el inductor de la síntesis de IFN. Lógicamente, al suprimirse la acción del inductor, se reduce notablemente la producción de IFN y de esta forma los niveles circulantes en sangre experimentan una caída brusca (Levis *et al.*, 1984).

De ser acertado este mecanismo, es lógico esperar que la detección de IFN sea más frecuente en los primeros sueros del par, tal como se ha observado en el presente estudio. Algunos autores han planteado que el IFN puede ser detectado en sueros de pacientes con manifestaciones clínicas presumiblemente provocadas por infecciones virales, lo cual puede utilizarse como un elemento importante para el diagnóstico de las infecciones virales (Parry y Parry, 1981; Flowers y Scott, 1985; Skidmore y Jarlow, 1987).

Al examinarse 124 sueros de pacientes en los cuales fue confirmada la infección viral, se encontró que aproximadamente la mitad de los sueros correspondientes a infecciones por virus de influenza y parainfluenza presentaron IFN, mientras que este fue detectable en menos de la mitad de aquellos casos infectados por enterovirus y coronavirus, siendo difícil su detección en casos con adenovirus y rinovirus, y usualmente negativos en infecciones por hepatitis y herpesvirus (Parry y Parry, 1981).

Otros investigadores también han señalado la importancia de utilizar la detección de IFN como una posibilidad más de ser aplicada para el diagnóstico viral, encontrando que el 41% de pacientes con una infección viral aguda documentada presentaron niveles detectables de IFN en sangre o en líquido cefalorraquídeo (Flowers y Scott, 1985).

En un estudio realizado con niños admitidos en una unidad pediátrica de enfermedades infecciosas, se encontró que en aquellos casos en los cuales se demostró la ocurrencia de alguna infección viral, el 70% de los sueros fueron IFN positivos (Skidmore y Jarlow, 1987).

En nuestro estudio pudo demostrarse la presencia de IFN en el 50% de los sueros correspondientes a la fase aguda, de aquellos pares que mostraron seroconversión por IHA. Este valor es similar a los referidos anteriormente, pudiendo concluir de esta forma que la determinación de la presencia de IFN en semejantes casos podría ser útil como un criterio de orientación para definir una posible infección viral, aunque la interpretación de los resultados resulta aún compleja en virtud de todos los aspectos señalados anteriormente.

No conocemos referencias de estudios previos que se hayan realizado con el objetivo de determinar la presencia de IFN

endógeno en el transcurso de infecciones por el virus dengue. El hecho de haber podido detectar niveles de IFN en individuos afectados por este virus, sugiere que el sistema IFN participa en la eliminación del agente viral del organismo, pudiendo desempeñar, al mismo tiempo, algún papel como inmunorregulador en los mecanismos etiopatogénicos de la FHD/SCD. Con relación a este aspecto se ha referido que la acción del IFN puede inhibir, en cierta medida, la replicación del virus, además de existir la posibilidad de que actúe suprimiendo la producción de anticuerpos por los linfocitos B (sensibilizados previamente a un serotipo del virus dengue), disminuyendo directamente el número de células B activadas y estimulando la subpoblación supresora de células T, o inhibiendo las T auxiliares (Sierra, 1985).

REFERENCIAS

- BOCCI, V. (1981). Pharmacokinetic studies of interferons. *Pharmacol. Ther.* 13: 421.
- CLARKE, D. H. y J. CASALS (1958). Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 7: 561-573.
- FLOWERS, D. y G. M. SCOTT (1985). How useful are serum and CSF interferon levels as a rapid diagnostic aid in virus infections? *J. Med. Virol.* 15: 35-47.
- GUZMAN, M. G.; G. KOURI; A. AGUILERA; M. SOLER (1987). Inhibición de la multiplicación del virus dengue en presencia de IFN. *Interferón y Biotecnología* 4: 108-114.
- HALSTEAD, S. B. (1988). Pathogenesis of Dengue: Challenges to molecular biology. *Sciences.* 239: 476-481.
- HOTTA, H.; S. HOTTA y M. HOTTA (1984). Effect of interferons on dengue virus multiplication in cultured monocyte macrophages. *Biken J.* 27: 189-193.
- KIRCHNER, H. (1986). The interferon system as an integral part of the defense system against infections. *Antiviral Res.* 6: 1-17.
- LEVIN, S. y T. HAHN (1981). Evaluation of the human Interferon System in viral disease. *Clin. Exp. Immunol.* 46: 475-483.

- LEVIS, S. C.; M. C. SAAVEDRA; C. CECCOLI; E. FALCOFF; M. R. FEUILLADE; D. A. M. ENRIA; J. I. MAIZTEGUI y R. FALCOFF (1984). Endogenous Interferon in Argentine Hemorrhagic Fever. *J. Infect. Dis.* 149: 428-433.
- LIMONTA, M.; V. RAMIREZ; P. LOPEZ; A. AGUILERA; E. PENTON; S. BARCELONA; A. GONZALEZ; R. DUJARRIC; C. DOTRES; O. LEGON y E. SELMAN-HOUSSEIN (1984). Uso del interferón leucocitario durante una epidemia de dengue hemorrágico (virus tipo II) en Cuba. *Interferón y Biotecnología* 1: 15-22.
- PARRY, R. P. y J. V. PARRY (1981). Interferon assay as a diagnostic test. *Lancet* 28: 506-507.
- SIERRA, G. (1985). Relación de los interferones con algunos aspectos esenciales de la respuesta inmune. *Interferón y Biotecnología* 2: 163-192.
- SKIDMORE, S. J. y M. J. JARLOW (1987). Interferon assay as a viral diagnostic test. *J. Virol. Meth.* 16: 155-158.
- VITHANOMSAT, S.; G. WASI; C. HARINASUTA y P. THONG CHA ROEN (1984). The effect of interferon on flavivirus in vitro: preliminary study. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth.* 15: 27-31.