

Catarina Maria Gonçalves Inácio

Febre Hemorrágica do Dengue: Uma Ameaça Constante

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Ana Miguel Duarte Matos Silva e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Catarina Maria Gonçalves Inácio, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009009609, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 18 de julho de 2014.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e aos seus docentes pelos conhecimentos que me transmitiram e experiências que me proporcionaram.

À Professora Doutora Ana Miguel Matos por toda a disponibilidade, ajuda e orientação ao longo da execução da minha monografia.

A toda a família pelo apoio incondicional e por me terem proporcionado a oportunidade de estudar e alcançar um futuro profissional.

A todos um sincero Muito Obrigado!

ABREVIATURAS

ADE: *Antibody Dependent Enhancement* (Anticorpos Potenciadores da Infecção)

C: Proteína da Cápside

CD: Células Dendríticas

CE: Células Endoteliais

CID: Coagulação Intravascular Disseminada

DNA: *Deoxyribonucleic Acid* (Ácido Desoxirribonucleico)

DC-SIGN: *Dendritic cell-specific Intercellular Adhesion Molecule-3-Grabbing Non-Integrin*

DENV: Vírus do Dengue

DHF: *Dengue Haemorrhagic Fever*

E: Proteína do Envelope

ELISA: *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*

Fc: Região constante dos anticorpos

FD: Febre do Dengue

FHD: Febre Hemorrágica do Dengue

FT: Fator Tecidual

ICAM-1: *Intracellular Adhesion Molecule 1* (Molécula 1 de Adesão Intercelular)

IFN: Interferão

IL: Interleucina

MCP-1: *Monocyte Chemoattractant Protein 1* (Proteína 1 Quimiotática de Monócitos)

NC: Nucleocápside

OMS: Organização Mundial de Saúde

ON: Óxido Nítrico

PAI-1: *Plasminogen Activator Inhibitor 1* (Inibidor do Ativador do Plasminogénio tipo 1)

prM: Proteína Percursora da Membrana

RNA: *Ribonucleic Acid* (Ácido Ribonucleico)

RT-PCR: *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase)

SCD: Síndrome de Choque do Dengue

TNF: *Tumor Necrosis Factor* (Fator de Necrose Tumoral)

VCAM-1: *Vascular Cell Adhesion Molecule 1* (Molécula 1 de Adesão Celular Vascular)

VEGF: *Vascular Endothelial Growth Factor* (Fator de Crescimento Endotelial Vascular)

RESUMO

A Febre Hemorrágica do Dengue (FHD) é uma arbovirose com elevado poder de propagação, transmitida pela vetor *Aedes aegypti* e ocorre principalmente durante uma infecção secundária provocada pelo vírus do Dengue. A principal característica da FHD é o extravasamento plasmático e as tendências hemorrágicas. Contudo, os mecanismos subjacentes ao extravasamento plasmático e às hemorragias ainda não são totalmente conhecidos, em parte devido à falta de modelos animais apropriados. Níveis plasmáticos elevados de citocinas inflamatórias antes e no momento do extravasamento plasmático em pacientes com FHD sugerem que a produção excessiva de citocinas induz permeabilidade vascular. A estratégia para a prevenção e controlo da FHD visa aumentar a capacidade de vigilância da doença e a resposta a surtos, e reduzir o impacto da doença usando o controlo do vetor em conjunto com um diagnóstico precoce e preciso.

Palavras-chave: Vírus do Dengue, Febre Hemorrágica do Dengue, Extravasamento Plasmático, Hemorragias.

ABSTRACT

The Dengue Haemorrhagic Fever (DHF) is an arbovirose with high spread power, transmitted by *Aedes aegypti* vector and occurs mostly during a secondary infection by Dengue virus. The main feature of DHF is the plasma leakage and a haemorrhagic tendency. However, the underlying mechanisms of plasma leakage and hemorrhage are still not well understood partly due to the lack of appropriate animal models. Elevated plasma levels of inflammatory cytokines before and at the time of plasma leakage in patients with DHF suggest that excessive cytokine production induce vascular permeability. Strategy for DHF prevention and control aimed at increasing the capacity for disease surveillance and outbreak response and reducing the disease burden using integrated vector management in conjunction with early and accurate diagnosis.

Keywords: Dengue Virus, Dengue Hemorrhagic Fever, Plasma Leakage, Hemorrhagic.

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	1
RESUMO.....	2
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUÇÃO.....	4
2. O VÍRUS DO DENGUE.....	5
2.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS.....	5
2.2 CICLO DE VIDA.....	6
2.3 EPIDEMIOLOGIA.....	7
2.4 TRANSMISSÃO DO VÍRUS: O VETOR.....	7
3. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....	8
4. PATOGÉNESE DA INFEÇÃO.....	11
4.1 TROPISMO.....	12
4.2 RESPOSTA IMUNE HUMORAL E ATIVAÇÃO DO SISTEMA DO COMPLEMENTO.....	13
4.3 ANTICORPOS POTENCIADORES DA INFEÇÃO.....	14
4.4 RESPOSTA IMUNE CELULAR.....	14
4.5 AUTOIMUNIDADE.....	15
4.6 CITOCINAS.....	15
5. DIAGNÓSTICO DO DENGUE.....	16
5.1 ISOLAMENTO DO VÍRUS.....	17
5.2 DETEÇÃO DO GENOMA VIRAL.....	18
5.3 DETEÇÃO DE ANTIGÉNIOS.....	18
5.4 DETEÇÃO DE ANTICORPOS.....	19
6. PREVENÇÃO E CONTROLO.....	20
7. PERSPECTIVAS FUTURAS: ANTIVIRAIS E VACINAS.....	21
7.1 ANTIVIRAIS.....	21
7.2 VACINAS.....	22
CONCLUSÃO.....	24
BIBLIOGRAFIA.....	25

I. INTRODUÇÃO

A doença causada pelo vírus do Dengue tornou-se uma das principais doenças infecciosas emergentes a nível mundial, sendo agora considerada uma epidemia global registada em 125 países (1). Em cada ano, há 100 milhões de infeções e 500.000 pessoas são hospitalizadas com Febre Hemorrágica do Dengue (3).

O vírus do Dengue, um arbovírus pertencente à família *Flaviviridae*, género *Flavivirus*, possui quatro serotipos geneticamente distintos e transmite-se ao homem através da picada de mosquitos do género *Aedes*, principalmente o *Aedes Aegypti* (3).

A infeção pelo vírus do Dengue pode ser uma infeção assintomática ou pode causar uma doença febril, designada Febre do Dengue (FD). A infeção pode evoluir para um quadro hemorrágico seguido ou não de choque, conhecidos respetivamente como, Febre Hemorrágica do Dengue (FHD) e Síndrome de Choque do Dengue (SCD). FHD e SCD são acompanhadas por trombocitopenia, extravasamento vascular e hipotensão (2).

A patogénese da infeção provocada pelo vírus do Dengue é complexa e deve-se ter em conta todas as características clínicas, imunológicas, patológicas e epidemiológicas da infeção (4).

Com a crescente expansão geográfica do vírus, é necessário definir medidas para a prevenção e controlo do Dengue, tendo como base a vigilância epidemiológica, o controlo do vetor e a educação das pessoas em áreas afetadas sobre medidas de proteção básicas. Fármacos antivirais e vacinas, que estão atualmente em desenvolvimento, podem dar um contributo para a prevenção do Dengue no futuro (2).

2. O VÍRUS DO DENGUE

2.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS

O vírus do Dengue (DENV) pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus* (2, 3, 5). É um vírus envelopado (2, 6), com cápside icosaédrica e composto por um genoma de cadeia simples de RNA de polaridade positiva (5). Há quatro serotipos do DENV distintos mas, geneticamente relacionados, denominados DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4 (5).

A estrutura deste vírus é simples, as partículas virais são esféricas, com um diâmetro de 40-50 nm (3). O genoma (Figura 1) tem aproximadamente 11 kb de comprimento (3) e possui um único *Open Reading Frame*, que codifica uma única poliproteína que posteriormente é clivada por proteases celulares e virais em três proteínas estruturais (cápside [C], proteína precursora da membrana [prM] e envelope [E]), e sete não estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5) (5).

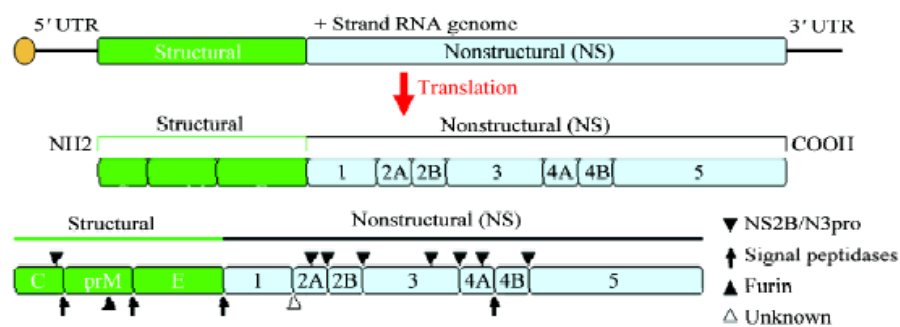


Figura 1. Genoma do vírus do Dengue. Retirado de Qi, Zhang, & Chi, 2008 (5)

O genoma é limitado em ambos os extremos por regiões não traduzidas (5' e 3' UTR) (2, 7), as quais desempenham um papel importante na regulação da replicação, transcrição e tradução viral (7).

A proteína da cápside (C) é responsável pela forma esférica da partícula viral. A proteína precursora da membrana (prM) é clivada pela protease do tipo furina gerando a proteína estrutural M, que juntamente com a proteína do envelope forma o revestimento externo da partícula viral. A proteína estrutural do envelope (E) é fundamental para a ligação viral ao recetor celular iniciando, assim, a entrada do vírus, e representa o principal componente antigénico do vírus, sendo a única capaz de induzir a produção de anticorpos neutralizantes da infeção. Possui uma estrutura tridimensional com três domínios estruturais distintos: Domínio I; Domínio II que contém a região de dimerização e o peptídeo de fusão; e Domínio III, o qual apresenta o local de ligação ao recetor. O Domínio III da proteína E é o mais variável na sequência de aminoácidos entre os serotipos. Como resultado, os

anticorpos específicos para este domínio mostram o maior grau de especificidade do serotipo (2, 8).

As proteínas não estruturais são essenciais para a replicação do RNA viral. A proteína NS3 é uma proteína multifuncional com atividade de helicase e protease. A sua atividade de serina protease requer a NS2B como cofator. NS5 funciona como S-adenosina metiltransferase e RNA polimerase RNA dependente. Além do seu papel na replicação viral, algumas proteínas não estruturais modificam o sistema imune do hospedeiro. NS2A, NS2B e NS4B interferem com a via de sinalização do interferão (IFN) tipo I. NS5 induz a produção de Interleucina (IL) 8. NS1 é a única proteína não estrutural com uma forma solúvel que pode ser detetada na circulação sanguínea (8).

2.2 CICLO DE VIDA

O vírus entra na célula após se ligar a recetores de superfície, como sulfato de heparina, DC-SIGN (*Dendritic cell-specific Intercellular Adhesion Molecule-3-Grabbing Non-Integrin*), recetores de manose, e recetores para a região constante dos anticorpos (Fc) (2, 9). Esta etapa é mediada pela proteína E que permite a entrada por endocitose na célula hospedeira (9). Durante a endocitose, sob as condições ácidas do endossoma, a proteína E sofre uma mudança estrutural de dímero em trímero. No trímero E, o péptido de fusão é exposto na ponta do trímero, levando a membrana viral e endossomal a fundirem-se (5, 10).

Depois de ocorrer a fusão, a nucleocapside (NC) é libertada no citoplasma, a proteína C e o RNA dissociam-se, e a replicação do RNA e montagem da partícula viral é iniciada (2, 5, 10). A montagem e formação das partículas virais imaturas ocorrem no retículo endoplasmático (2, 10). Estas partículas são transportadas através da via trans-Golgi, onde ocorre a maturação. A maturação do vírus ocorre em dois passos. Primeiro, em condições de baixo pH, a proteína prM sofre uma mudança conformacional e é clivada pela protease celular do tipo furina. Segundo, durante a exocitose, ocorre um rearranjo da proteína E (5, 10). Este processo de maturação torna a partícula viral infecciosa, que depois é libertada da célula hospedeira por exocitose (5).

2.3 EPIDEMIOLOGIA

Em 2012, o Dengue foi classificado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como a doença viral transmitida por mosquitos mais importante em todo o mundo, devido à propagação geográfica significativa do vírus e do seu vetor em áreas anteriormente não afetadas (11).

O Dengue é endêmico em mais de 125 países, e aproximadamente 3,6 mil milhões de pessoas vivem em áreas tropicais e subtropicais onde o vírus do Dengue tem potencial para ser transmitido (1).

A OMS estima uma incidência anual de aproximadamente 100 milhões de infeções, com cerca de 500.000 pessoas com FHD a requerer hospitalizações, principalmente entre as crianças. (2, 6). Ocorrem, anualmente, mais de 20.000 mortes relacionadas com o Dengue (1, 5).

As áreas geográficas onde ocorre a transmissão do Dengue têm-se expandindo nos últimos anos, e os 4 serotipos do vírus do Dengue são encontrados em todo o mundo (2, 3). A figura 2 mostra a distribuição geográfica de casos de Dengue registados em 2013.



Figura 2. Países ou áreas do mundo onde o Dengue foi reportado em 2013, de acordo com dados recolhidos pela OMS. Retirado de Dengue, countries or areas at risk, 2013. Geneva: World Health Organization (WHO); 2014. Disponível em http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Global_DengueTransmission_ITHRiskMap.png

2.4 TRANSMISSÃO DO VÍRUS: O VETOR

O vírus do Dengue é transmitido aos humanos pela picada de um mosquito fêmea infetado do género *Aedes*. O vetor mais eficiente é *Aedes aegypti*, embora *Aedes albopictus* e *Aedes polynesiensis* também estejam envolvidos em surtos de Dengue (5), dependendo da localização geográfica (6).

Aedes aegypti é uma espécie tropical e subtropical amplamente distribuído em todo o mundo (12) e um mosquito diurno com preferência pelas primeiras horas da manhã e pelo entardecer (13). As fêmeas põem os seus ovos preferencialmente em locais com água e em lugares artificiais, incluindo tanques de água, vasos de flores, pneus velhos, baldes e outros recipientes encontrados tipicamente ao redor ou dentro das habitações. Os ovos são postos na superfície da água ou próximo da superfície, e uma vez em fase embrionária podem resistir a desidratação por longos períodos de tempo. As fases do ciclo de vida do *Ae. aegypti* são divididas em fase aquática (ovo, larva e pupa) e fase terrestre que corresponde ao mosquito adulto (13).

Para ocorrer a transmissão do vírus o mosquito fêmea tem que picar um humano infectado durante a fase de virémia da doença (11). Após a ingestão da refeição de sangue infectado, o vírus replica-se nas células epiteliais do intestino. Depois passa do trato gastrointestinal para as glândulas salivares após um período de incubação extrínseco, um processo que demora aproximadamente 10 dias. Após a replicação viral nas glândulas salivares, o mosquito infectado pode transmitir o vírus, através da saliva, quando morde o hospedeiro (2, 6, 13). O aparelho genital do mosquito também fica infectado transmitindo o vírus para os ovos do mosquito aquando a sua deposição. Uma vez que o mosquito é contaminado fica capacitado a transmitir o vírus por toda a vida (11).

O mosquito é conhecido pela sua eficiente capacidade vetorial com uma grande afinidade para o sangue humano, grande suscetibilidade para os 4 serotipos do vírus, e está altamente adaptado à vida urbana. (11).

3. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A infecção por qualquer um dos serotipos do vírus do Dengue pode dar origem a um quadro clínico que engloba sintomatologia diversa e uma evolução clínica difícil de prever. O quadro clínico varia, em gravidade, de FD, a condições que colocam em risco a vida humana, tais como FHD ou SCD (6, 14). A FHD e SCD são consideradas as manifestações graves do vírus do Dengue e, muitas vezes são denominadas Dengue Grave (2).

Depois do período de incubação de 3-15 dias (geralmente 5 a 8) (2), a doença começa subitamente e é seguida por 3 fases: fase febril, fase crítica ou fase de apirexia, e fase de recuperação (12).

A fase febril dura normalmente entre 2 a 7 dias (6, 8, 12) e começa com um aparecimento súbito de febre elevada (39-40°C) que pode ser bifásica (6). A febre é acompanhada por sintomas não específicos incluindo rubor facial, erupção cutânea, dor de

cabeça (especialmente na área retro-orbital), dor abdominal, mialgia, artralgia, náuseas e vômitos. Entre o 2º e 6º dia, pode aparecer um exantema maculopapular que começa no tronco e alastra-se para a face e extremidades, permanecendo por 2-3 dias. Manifestações hemorrágicas moderadas, como petéquias, hemorragias da membrana das mucosas (exemplo nariz e gengivas) e hemorragias do trato gastrointestinal podem acontecer. Nesta fase da doença também se pode desenvolver desidratação (8). A monitorização de sinais de alerta e parâmetros clínicos é fundamental para reconhecer a progressão para a fase crítica (12).

No período de apirexia (dias 3-7 da doença), quando a temperatura baixa para 37,5-38°C ou menos e permanece abaixo deste nível, ocorre um aumento na permeabilidade vascular em paralelo com o aumento do hematócrito. Este episódio marca o início da fase crítica. Um aumento na permeabilidade capilar induz o extravasamento do plasma que, por sua vez, leva à perda de volume intravascular, hemoconcentração e insuficiência circulatória (2). O extravasamento do plasma dura 24-48 horas (12) e normalmente é seguido por uma resolução rápida e espontânea (8). Leucopenia progressiva seguida de uma rápida diminuição na contagem das plaquetas geralmente precede o extravasamento do plasma. Efusão pleural e ascite podem ser clinicamente detetados, dependendo do grau de extravasamento do plasma (12).

Nos casos em que o volume de plasma perdido é elevado, pode ocorrer choque, SCD. Com um choque prolongado, a conseqüente hipoperfusão de órgãos pode resultar em comprometimento dos órgãos, acidose metabólica e Coagulação Intravascular Disseminada (CID) (12, 15). Dados sobre a ocorrência de CID na Dengue Grave ainda são inconclusivos, por isso melhores estudos são necessários para mostrar a frequência da CID em pacientes com FHD/SCD e a sua associação com a evolução clínica (4).

Se o paciente sobreviver à fase crítica, ocorre uma reabsorção gradual do fluido do compartimento extravascular nas 48-72 horas seguintes. O bem-estar geral do paciente melhora e o estado hemodinâmico estabiliza. O hematócrito estabiliza e ocorre a recuperação da contagem de plaquetas (12).

Os primeiros sintomas de FD e FHD são indistinguíveis. Em ambas ocorre um início súbito de febre elevada e desenvolvem-se os mesmos sintomas, com a diferença que as hemorragias são mais graves e manifestam-se com maior frequência na FHD. Como mostra a figura 3, é na fase crítica que o quadro clínico da FHD sofre alterações em relação a FD. O extravasamento do plasma, a trombocitopenia mais acentuada (< 100.000 plaquetas/mm³), hemoconcentração mais severa, caracterizada por um aumento de 20% no hematócrito, e desenvolvimento de ascite ou efusão pleural são os critérios que diferenciam a FHD da FD (2, 8).

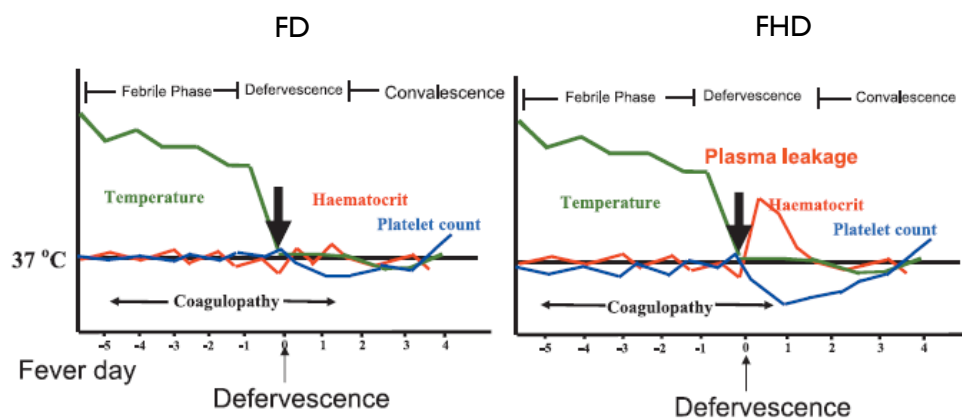


Figura 3. Curso Clínico da FD e FHD. Adaptado de Srikiatkachorn, 2009 (8)

A OMS classifica a FHD em quatro graus (I ao IV) de acordo com a gravidade da doença (4, 6). O grau I e II representam casos relativamente moderados, sem choque, enquanto os graus III e IV são casos mais graves e acompanhados de choque (4). FHD geralmente resulta da infecção secundária, mas por vezes pode resultar de infecções primárias, especialmente em crianças (6).

SCD distingue-se da FHD pela presença de comprometimento cardiovascular, que ocorre quando a perda de plasma para o espaço intersticial resulta em choque. O SCD é um estado que pode ser fatal, com taxas de mortalidade de 20%; no entanto, estes valores podem ser inferiores a 1% se em lugares com recursos suficientes e experiência clínica houver uma deteção precoce dos sinais de alerta e um tratamento adequado de modo a evitar a progressão para esta fase crítica. A fase de SCD ocorre no momento ou pouco depois da apirexia, que é caracterizada por um pulso fraco e hipotensão com a pele fria e húmida na fase inicial de choque (Grau III) (14, 16 e 17). Se os pacientes não receberem tratamento adequado e imediato, um estado de profundo choque pode acontecer, onde o pulso e a pressão arterial se tornam indetectáveis (Grau IV), resultando em morte dentro de 12 a 36 horas após o início do choque (4).

O tratamento do Dengue consiste primeiramente em cuidados de suporte, incluindo repouso, antipiréticos e analgésicos. Fluídos intravenosos para repor o volume intravascular perdido em pacientes com DFH e DSS é um pré-requisito para o tratamento (2). A administração adequada de fluídos, a avaliação periódica do equilíbrio hidro-eletrolítico e monitorização do desenvolvimento de complicações é fundamental para evitar a progressão da doença (6).

4. PATOGÊNESE DA INFEÇÃO

Os principais mecanismos pelos quais a infecção pelo vírus do Dengue causa FHD ainda não estão claramente elucidados e acredita-se ser resultado tanto de fatores virais como do hospedeiro, tais como envolvimento da ativação de células T, produção de citocinas e perturbação do sistema hemostático (15). Apesar da intensa pesquisa que se tem feito, muitas questões fundamentais sobre a patogênese estão por responder devido à falta de modelos animais apropriados. Nenhuma espécie não-humana exibe naturalmente as formas mais graves do Dengue, impedindo assim o desenvolvimento de um modelo animal adequado (2).

A infecção por um serotipo confere imunidade futura contra aquele serotipo mas não contra os outros serotipos, isto é, uma infecção primária com qualquer um dos 4 serotipos do vírus do Dengue confere proteção ao longo da vida para o serotipo homólogo. Além disso, quando infetado uma segunda vez por um serotipo diferente (serotipos heterólogos), uma infecção mais grave pode ocorrer (6).

Várias teorias têm sido propostas para explicar a patogênese da infecção pelo vírus do Dengue e o porquê da FHD ocorrer mais em infecções secundárias do que em infecções primárias (15). De uma maneira geral, uma complexa interação entre o vírus do Dengue, células do sistema imunitário e células endoteliais tem impacto na função endotelial de barreira celular. O vírus do Dengue pode afetar as células endoteliais (CE) direta ou indiretamente através de mediadores libertados de células imunes ativadas ou infetadas. Alterações na expressão de moléculas de adesão, enzimas e citocinas podem levar ao aumento da permeabilidade vascular e ativação do sistema de coagulação na FHD (Figura 4) (8). De seguida apresentarei as várias teorias descritas em estudos que explicam a patogênese da infecção, incluindo o fenômeno anticorpos potenciadores da infecção e a teoria “*Original Antigenic Sin*”.

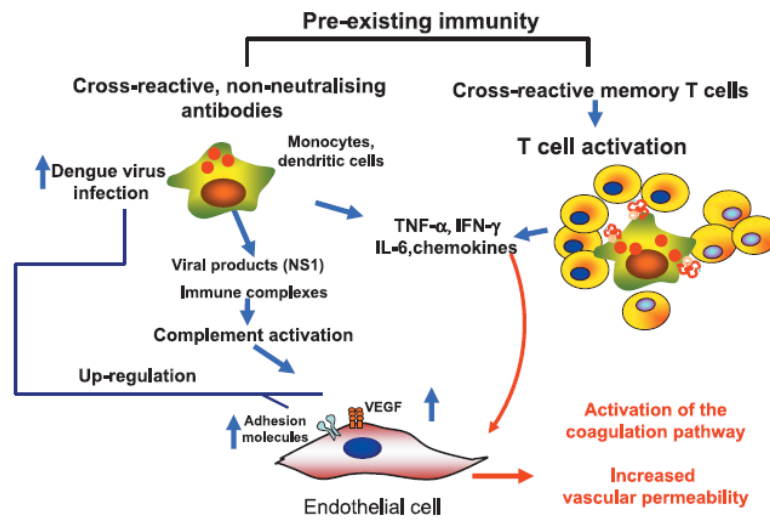


Figura 4: Patogênese da Febre Hemorrágica do Dengue. Adaptado de Srikiatkachorn, 2009 (8)

4.1 TROPISMO

O tropismo celular e tecidual do vírus do Dengue pode ter um impacto importante sobre o desenlace de infecções pelo vírus do Dengue. Estudos *in vitro* e resultados de autópsias sugerem que três sistemas de órgãos desempenham um papel importante na patogênese da FHD: o sistema imune, o fígado e CE (4).

Após a inoculação por um mosquito infetado, o vírus é presumivelmente injetado na corrente sanguínea, e disseminado para a epiderme e derme, resultando na infecção de células de Langerhans imaturas (células dendríticas [CD] epidérmicas) (2, 4). Estas células infetadas tornam-se ativas e migram para os nódulos linfáticos, onde monócitos e macrófagos são recrutados, tornando-se alvos da infecção. Conseqüentemente, a infecção é amplificada e o vírus é disseminado através do sistema linfático. Como resultado desta fase de virémia, várias células do sistema mononuclear fagocitário são infetadas, incluindo monócitos derivados do sangue, CD (4) e macrófagos do baço e do fígado (18). Os recetores foram identificados para alguns tipos de células: o recetor manose nos macrófagos e DC-SIGN nas células dendríticas (16). Também tem sido demonstrado que o vírus do Dengue tem tropismo para as células mononucleares em circulação no sangue, células do baço, nódulos linfáticos e medula óssea (18, 19).

O fígado é frequentemente envolvido nas infecções em modelos humanos e de ratos (20), com alguns relatos que sugerem uma associação entre os níveis de enzimas hepáticas elevadas e tendências hemorrágicas espontâneas (19).

As CE desempenham um papel importante na resposta da coagulação em consequência da inflamação sistêmica grave. Os primeiros estudos de biópsias da pele indicaram que a microcirculação localizada nas papilas dérmicas é o principal local afetado, embora os antígenos virais não tenham sido detetados nas CE mas foram detetados em

células vizinhas da microcirculação (4). Em contraste, existe evidência da presença de antígenos virais no endotélio vascular pulmonar (18). Apesar do aumento da permeabilidade vascular que ocorre na FHD, é concebível que as CE da região pulmonar e abdominal reajam de uma forma específica a uma infecção pelo vírus do Dengue, resultando no extravasamento plasmático característico da FHD. A apoptose de CE microvasculares em tecidos pulmonares e intestinais foi detetada em casos fatais de FHD, fornecendo uma possível explicação para o extravasamento de plasma que ocorre nas cavidades pleural e peritoneal (4).

4.2 RESPOSTA IMUNE HUMORAL E ATIVAÇÃO DO SISTEMA DO COMPLEMENTO

A resposta imune humoral é vital para o controlo da infecção pelo vírus do Dengue e da sua disseminação (2). Depois da infecção primária, formam-se anticorpos neutralizantes contra as proteínas estruturais e não estruturais (6). Os principais alvos dos anticorpos são a proteína prM, a proteína E e a proteína NS1. Os anticorpos neutralizantes são dirigidos contra a proteína E, inibindo a ligação viral, internalização e replicação dentro das células alvo. Existem vários epítomos que se encontram dentro de cada um dos três domínios da proteína E, mas nem todos são igualmente acessíveis para a ligação do anticorpo devido à conformação dimérica da proteína E na superfície do vírus, e estrutura apertada da forma madura (2).

Os anticorpos contra o vírus do Dengue podem também ligar-se às proteínas do complemento e promover a sua ativação. A fixação do complemento ao vírus, mediada por anti-prM e/ou anticorpos contra a proteína E, pode inibir a infecção viral (2). O sistema do complemento é um dos principais componentes humorais da imunidade inata e interage intimamente com o sistema hemostático para fornecer a primeira linha de defesa contra agentes patogénicos (4).

Contundo, o envolvimento do sistema complemento também pode ser patogénico (2, 4). Durante o período de apirexia, quando o extravasamento do plasma se torna aparente, níveis elevados dos produtos de ativação C3a e C5a foram encontrados no plasma. Por isso, foi colocada a hipótese de que a ativação do complemento possa desempenhar um papel importante na patogénese do Dengue. A ligação de anticorpos heterotípicos à NS1 expressa em células infetadas pode resultar na ativação do complemento. A produção do complexo C5b-C9 pode provocar reações celulares e estimular a produção de citocinas inflamatórias, que são associados com o desenvolvimento de FHD / SCD. Alternativamente, o complexo C5b-C9 pode desencadear outros efeitos locais e sistémicos, que podem estar

envolvidos na CID (4). O aumento da ativação do complemento na superfície das CE pode contribuir para o extravasamento vascular (2).

4.3 ANTICORPOS POTENCIADORES DA INFEÇÃO

O mecanismo mais frequentemente invocado para explicar a evolução clínica da infecção pelo vírus do Dengue até FHD/SCD está associado à presença, no indivíduo infetado, de anticorpos não neutralizantes, os quais parecem contribuir para facilitar a entrada dos vírus em novas células (2).

Anticorpos potencializadores da infecção (*Antibody Dependent Enhancement, ADE*) desempenham um papel fundamental na patogênese da infecção (6). Durante uma infecção secundária, os anticorpos heterólogos pré-existentes reconhecem o vírus infetante, formam complexos antígeno-anticorpo, os quais acabam por ser reconhecidos e internalizados por células mononucleares, através dos seus recetores Fc, sem neutralizar o vírus. Uma vez que os anticorpos heterólogos não são neutralizantes, as partículas virais acabam por replicar dentro das células mononucleares, o que permite um aumento do número de células infetadas (15). Consequentemente, o maior número de células infetadas não só contribui para o aumento da carga viral, como parece estimular a produção de citocinas pró-inflamatórias e outros mediadores da resposta imune, diretamente implicados no aumento da permeabilidade capilar (4).

ADE ocorre apenas na presença de concentrações sub-neutralizantes de anticorpos contra o vírus do Dengue. Assim, anticorpos homólogos em níveis sub-neutralizantes também são capazes de potencializar a infecção pelo vírus do Dengue pelo mesmo mecanismo (6).

4.4 RESPOSTA IMUNE CELULAR

O vírus do Dengue pode infetar tanto células T CD4⁺ como células T CD8⁺ (2, 6), e a resposta imune celular pode ser protetora ou causar imunopatologia. As células T respondem através de diversas funções, incluindo proliferação, lise de células alvo e produção de uma variedade de citocinas (2). Em resposta ao antígeno, as células T produzem IFN γ , Fator de Necrose Tumoral (TNF) α , TNF β , IL-2, IL-6, IL-10 e IL-13 que pode contribuir para a patogênese da infecção secundária (2, 6).

Após a infecção primária, as células T de memória que se formam reconhecem tanto os serotipos homólogos como os serotipos heterólogos, embora com uma avidéz diferente.

Num reação secundária com o serotipo causador da infecção primária, as células T de memória ligam-se fortemente ao epítipo e respondem produzindo várias citocinas e provocando a lise da célula infetada (4). No entanto, numa exposição secundária, a maioria das células T de memória apresenta uma resposta imune diferente e inapropriada contra serotipos heterólogos, que apresentam reação cruzada à infecção prévia. Estas células possuem baixa avidéz para o epítipo do antígeno heterólogo, produzem níveis elevados de citocinas e perdem a sua atividade citolítica. Consequentemente tornam-se ineficientes a eliminar o vírus, aumentando assim a virémia e contribuindo para o desenvolvimento da FHD (4, 6).

O fenómeno de baixa afinidade para o serotipo heterólogo da infecção secundária mas uma elevada afinidade para o epítipo do vírus causador da infecção primária é referido como *Original Antigenic Sin* (2).

4.5 AUTOIMUNIDADE

Os anticorpos produzidos durante uma infecção pelo vírus do Dengue podem reagir de forma cruzada com alguns antígenos próprios (*self*). Foi demonstrado, por exemplo, que anticorpos que reconhecem um epítipo da proteína E são capazes de se ligar ao plasminogénio e inibir a atividade da plasmina.

A reação cruzada de anticorpos anti-NSI com CE pode desencadear a expressão de óxido nítrico (ON) e apoptose (4). Os anticorpos anti-NSI também aumentam a expressão de IL-6, IL-8 e molécula I de adesão intercelular (ICAM-1) (21). Mais estudos são necessários para ver se a reação cruzada entre anti-NSI e CE pode levar ao aumento da permeabilidade que é característica da DFH (4). Além disso, os anticorpos anti-NSI também reagem com plaquetas humanas e de ratos, e foram capazes de causar trombocitopenia e hemorragia em ratos, indicando que esta reação cruzada de anticorpos anti-plaquetários pode ser patogénica (22).

4.6 CITOCINAS

Uma carga viral elevada e ativação de um elevado número de células T não protetoras resulta num “*storm*” de citocinas inflamatórias e outros mediadores, que conduz ao aumento do extravasamento do plasma, característica da FHD/SCD. Um dos maiores desafios é a identificação de fatores solúveis que podem mediar, quer isoladamente ou em combinação, as alterações funcionais induzidas em CE que estão associados com o aumento

do extravasamento plasmático (4). As concentrações de várias citocinas e outros mediadores, bem como os recetores solúveis, estão aumentadas de forma significativa durante o Dengue Grave. Níveis plasmáticos elevados de IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-18, TNF- α e IFN- γ foram encontrados em pacientes com FHD (2, 23). Outros mediadores e fatores solúveis encontrados em níveis elevados inclui o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), proteína I quimiotática de monócitos (MCP-1), fator estimulante de colónias de granulócitos-macrófagos, fator inibitório da migração de macrófagos, molécula I de adesão celular vascular (VCAM-1), ICAM-1, fator tecidual (FT), trombosmodulina, inibidor do ativador do plasminogénio tipo I (PAI-1) (4).

As funções biológicas de algumas citocinas e fatores solúveis e a sua implicação no desenvolvimento de hemorragia estão resumidos Tabela I.

Mediadores	Função biológica em relação à patogénese
C3a	Ativa as plaquetas e aumenta as suas propriedades de ativação e adesão.
C5a	Aumenta a trombogenicidade por aumento da expressão de FT e PAI-1; Estimula monócitos a produzir IL-1, IL-6, IL-8 e TNF- α .
IL-1	IL-1 β é um importante mediador da ativação de CE induzidas por plaquetas, causando um aumento na expressão de VCAM-1. VCAM-1 promove a adesão de monócitos ao endotélio; IL-1 aumenta a expressão de FT na CE e suprime a atividade anticoagulante da superfície da CE.
IL-2	Desempenha um papel central na regulação da resposta imune; Induz a proliferação de células T; Estimula a síntese de INF- γ e TNF- α ; Pode danificar a integridade da CE.
IL-6	Mediador da febre e reações da fase crítica; Em conjunto com outras citocinas potencia a cascata de coagulação.
IL-8	Tem um efeito sobre a expressão de moléculas de adesão, tais como a ICAM-1 e VCAM-1.
IL-10	Redução do nº de plaquetas; Pode modular a ativação da coagulação.
IL-18	Atividade pró-inflamatória; Regula positivamente a expressão de moléculas de adesão, o que pode contribuir para um estado pró-coagulante; Níveis elevados de IL-18 estão associados a trombocitopenia e elevados níveis de enzimas hepáticas.
TNF- α	Trombocitopenia; Aumenta a permeabilidade de CE; Aumenta a expressão do FT nos monócitos e CE e diminui a expressão de trombosmodulina nas CE; Aumenta a expressão de ON; Ativa fibrinólise; Níveis elevados estão relacionados com a apoptose de CE e hemorragias
ON	Aumenta a vasodilatação e edema; Em grandes concentrações induz apoptose
VEGF	É o mediador chave da permeabilidade vascular; Reduz os componentes das junções da CE; Após ativação, estimula a expressão de ICAM-1 e VCAM-1 em CE.

Tabela I. Resumo dos mediadores associados ao desenvolvimento de FHD. Adaptado de Martina, Koraka, & Osterhaus, 2009 (4)

5. DIAGNÓSTICO DO DENGUE

Um diagnóstico eficiente e preciso do Dengue apresenta um importância primordial para os cuidados clínicos (12). O diagnóstico do Dengue começa com uma suspeita clínica, induzida pelo reconhecimento de um conjunto de sinais e sintomas. No início da fase febril da doença, pacientes com Dengue apresentam uma história de febre elevada, que é

acompanhada por muitos sintomas não específicos como náuseas, dores de cabeça e mialgias. Infelizmente, estes sintomas não são exclusivos do Dengue e são relatados noutras doenças febris. Como tal, para um diagnóstico diferencial, é necessário proceder a um exame físico, a fim de detetar sintomas mais específicos do Dengue, como exantema maculopapular e manifestações hemorrágicas na pele e mucosas, e ao diagnóstico laboratorial (7).

Como o diagnóstico clínico carece de especificidade, um diagnóstico definitivo da infeção pelo vírus do Dengue requer confirmação laboratorial (7). Os métodos de diagnóstico laboratorial para confirmar a infeção pelo vírus do Dengue envolvem a deteção do vírus, do genoma viral e de antígenos ou anticorpos (12).

Antes do 5º dia da doença, durante o período febril, a infeção pode ser diagnosticada pelo isolamento do vírus em culturas celulares, pela deteção de RNA viral com testes de amplificação de ácidos nucleicos, ou pela deteção de antígeno virais pela técnica *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) (Figura 5). Após o 5º dia, o vírus do Dengue e os antígenos desaparecem do sangue e aparecem os anticorpos específicos, passando a serologia a ser o método de escolha para o diagnóstico (12).

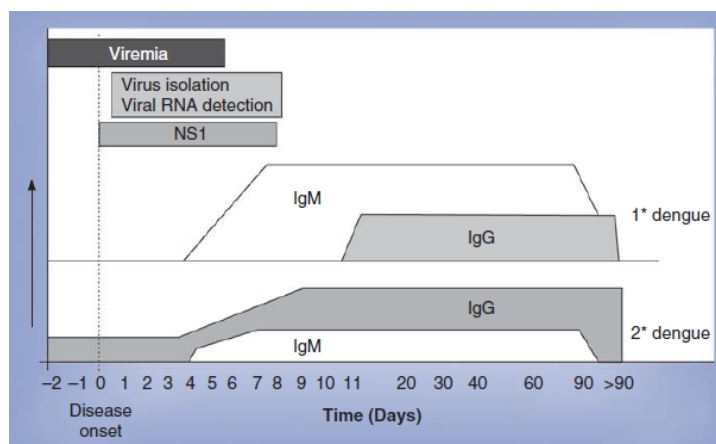


Figura 5: Tempo aproximado, a partir do início da doença, no qual deve ser usado os métodos de diagnóstico. Retirado de Tang & Ooi, 2012 (7)

5.1 ISOLAMENTO DO VÍRUS

A virémia pode ser detetada a partir de 2 ou 3 dias antes do início súbito de febre até 5 dias após o início da doença (7, 11). Durante o período de virémia, amostras de sangue, soro ou plasma e também de tecidos obtidos de autópsias podem ser usadas para o isolamento do vírus (7, 12).

A cultura celular é o método mais utilizado para o isolamento do vírus do Dengue. A linha celular mais usada é a C6/36, a qual foi obtida a partir do mosquito *Ae. albopictus* (2, 3,

6, 7, 12). Após um período de incubação, a replicação viral é detetada pela identificação de antígenos virais através de um ensaio de imunofluorescência usando anticorpos monoclonais específicos para o vírus Dengue (3, 7).

O isolamento do vírus é extremamente sensível e específico (3). Contudo exige laboratórios com as infra-estruturas necessárias e operadores qualificados, depende da presença de vírus viáveis na amostra biológica e é um processo bastante demorado (tempo para os resultados de 1 a 2 semanas) e dispendioso (7).

5.2 DETECÇÃO DO GENOMA VIRAL

A detecção por transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) de RNA viral extraído do sangue, soro, plasma ou tecidos, proporciona um método rápido (resultados disponíveis em 1-2 dias), sensível e específico para a confirmação da infecção pelo vírus do Dengue (7).

A reação de RT-PCR envolve, inicialmente, uma retro-transcrição em que a partir do RNA, e através de uma transcriptase reversa, é sintetizada uma cadeia de DNA complementar (7). De seguida, procede-se a vários ciclos de amplificação a temperaturas pré-definidas, utilizando primers específicos da região C/prM (12), oligonucleótidos, DNA polimerase e cofator Mg^{2+} (7). Os produtos desta reação são separados por eletroforese em gel de agarose, que permite que os serotipos do Dengue sejam diferenciados com base no seu tamanho (3).

A técnica de RT-PCR para a detecção de genoma viral é relativamente simples de executar e permite a identificação do serotipo em circulação. A desvantagem desta técnica é o seu custo elevado e os conhecimentos técnicos necessários (6).

5.3 DETECÇÃO DE ANTIGÉNIOS

Métodos alternativos baseados na detecção de antígenos virais têm sido desenvolvidos. Anticorpos conjugados com um fluorocromo (técnica de imunofluorescência) ou com uma enzima (ensaios imunoenzimáticos) permitem a detecção de antígenos do vírus do Dengue em doentes com infecção primária e secundária até 9 dias após o início da doença (12, 24). O método mais utilizado é a detecção do antígeno NSI através de ensaios imunoenzimáticos como a técnica ELISA (7).

O antígeno NSI pode ser detetado em tecidos como o fígado, baço e nódulos linfáticos (3) ou na forma solúvel no soro do doente (2). A quantidade de NSI no soro está relacionada com a virémia e a patogénese da doença (7, 24).

A técnica de ELISA para a deteção de antígenos tornou-se numa importante ferramenta de diagnóstico precoce da infeção, uma vez que permite detetar a doença na fase inicial quando os anticorpos ainda não são detetáveis. Contudo é um método menos sensível que a cultura celular (2).

Atualmente, kits comerciais para a deteção do antígeno NS1 já estão disponíveis, embora estes não diferenciem os serotipos de vírus Dengue (2, 7, 12).

5.4 DETEÇÃO DE ANTICORPOS

A resposta serológica em doentes com infeção pelo vírus do Dengue apresenta dois padrões, de acordo com o estado imunológico do hospedeiro. A resposta de anticorpos primária é vista em indivíduos que não foram previamente infetados pelo vírus do Dengue e não são imunes. A resposta secundária é observada em indivíduos que já tiveram uma infeção prévia pelo vírus do Dengue (12).

A resposta primária (Figura 5) é caracterizada por um aumento lento de anticorpos específicos e a imunoglobulina IgM é a primeira a aparecer por volta do 5º dia da doença. O pico de IgM ocorre aproximadamente duas semanas depois do início da doença e diminui depois para níveis indetetáveis durante 2-3 meses. A imunoglobulina IgG é detetada em níveis baixos ao fim de 10 dias de doença, aumentando a partir daí. A IgG continua a ser detetável após vários meses e ao longo da vida (12).

Na resposta secundária (Figura 5), a imunoglobulina dominante é a IgG que é detetável em níveis elevados e persiste durante toda a vida. Os níveis de IgM são mais baixos na infeção secundária e pode ser indetetável em alguns casos, dependendo do teste usado (12).

A deteção de anticorpos (IgM e IgG) anti-dengue é o teste mais utilizado no diagnóstico do Dengue (6). O método usado para o diagnóstico serológico da infeção é o ensaio imunoenzimático ELISA (Figura 6), uma vez que é relativamente barato, tem boa sensibilidade e especificidade, e é rápido e simples de realizar (3, 6).

O soro, sangue e saliva podem ser usados para a deteção de anticorpos se as amostras forem recolhidas dentro do prazo adequado (cinco dias ou mais após o início da doença) (3, 12). A IgM específica do Dengue é detetada, primeiramente, através da captura de todas as IgM usando um anticorpo específico para IgM humana ligado a uma fase sólida. Os antígenos dos 4 serotipos do vírus do Dengue são ligados aos anticorpos específicos do Dengue, que são detetados por um anticorpo conjugado a uma enzima que irá transformar

um substrato incolor em produtos coloridos. A intensidade da cor formada é medida num espectrofotómetro. A IgG é detetada usando também este princípio (12).

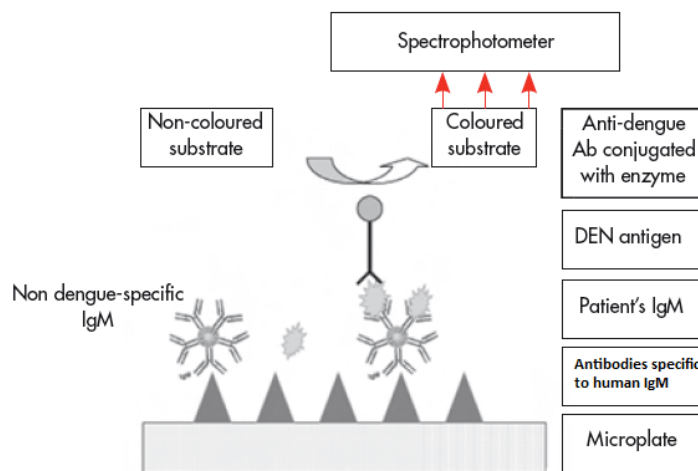


Figura 6. Princípio do teste de ELISA para a deteção de anticorpos.
Adaptado de WHO 2009 (12)

A razão IgM/IgG também pode ser utilizado para distinguir uma infeção primária de uma infeção secundária. Uma infeção pelo vírus do Dengue é definida com primária se a razão IgM/IgG é maior que 1,2-1,4, ou como secundária se a razão for menor que 1,2-1,4 (3, 12).

A principal desvantagem dos ensaio serológicos é o risco considerável para resultados falso-positivos devido à potencial reatividade cruzada com outros *Flavivirus*, como por exemplo, vacinação contra Vírus da Febre Amarela (2).

6. PREVENÇÃO E CONTROLO

Devido à crescente preocupação relativamente à expansão do Dengue como uma ameaça para a saúde, a OMS definiu, em 2012, estratégias para prevenção e controlo do Dengue, que compreende quatro elementos principais: 1) Diagnóstico e Gestão de casos; 2) Vigilância epidemiológica e Preparação para surtos; 3) Controlo do vetor e 4) Implementação futura de vacinas. O principal objetivo da implementação das estratégias é reduzir a mortalidade e morbilidade do Dengue em pelo menos 50% e 25% respetivamente, até 2020 (25).

A implementação de uma conduta clínica oportuna e apropriada, e de um diagnóstico clínico e laboratorial precoce pode contribuir para reduzir a evolução para casos de Dengue mais grave e, assim, reduzir a mortalidade (25).

O principal objetivo da vigilância epidemiológica é detetar rapidamente as epidemias para uma intervenção precoce, acompanhar a distribuição e propagação do Dengue ao longo do tempo e geograficamente, e acompanhar os fatores de risco ambientais. Uma resposta eficaz a surtos é baseada em planos de contingência bem desenvolvidos que são amplamente divulgados e perfeitamente entendidos e testados antes de uma epidemia (25).

Intervenções de prevenção e controlo do vetor visam reduzir a transmissão do vírus do Dengue e, assim, diminuir a incidência da infeção e prevenir surtos. Isto requer a combinação de várias estratégias e metodologias de controlo ambiental, biológico (introdução de organismos vivos que atacam, parasitam ou competem com a larva ou a forma adulta do mosquito) e químico (aplicações de larvicidas ou inseticidas e pulverizações em situações de emergência para diminuir a densidade do mosquito) (3, 6, 12). Os métodos de controlo ambiental visam mudar o ambiente, a fim de evitar ou minimizar a propagação de vetor e o contacto humano (6, 12).

O controlo do vetor é realizado, principalmente, através da eliminação do habitat do mosquito e de recipientes favoráveis à oviposição e desenvolvimento da fase aquática. O habitat é eliminado impedindo o acesso do mosquito aos recipientes que usa para depositar os seus ovos, através do seu esvaziamento, limpeza ou cobertura. A remoção das fases de desenvolvimento usando inseticidas, larvicidas ou métodos de controlo biológico e matar os mosquitos com inseticidas também permite a eliminação do habitat (12).

A proteção pessoal, através do uso de roupas de proteção e repelentes, e a educação das pessoas em áreas afetadas sobre medidas de proteção são estratégias importantes para prevenir o Dengue (2).

7. PERSPECTIVAS FUTURAS: ANTIVIRAIS E VACINAS

Atualmente, a prevenção do Dengue é possível apenas com o controlo dos vetores e proteção pessoal. No entanto, o desenvolvimento de fármacos antivirais e de vacinas tem potencial para alterar este fato (12).

7.1 ANTIVIRAIS

Hoje em dia, não há nenhuma terapêutica antiviral específica para o Dengue, e o tratamento continua a ser apenas de suporte (17). O plano para novas abordagens terapêuticas para o Dengue tem-se centrado nas várias fases do ciclo de replicação viral (2). O ciclo de vida do vírus do Dengue mostra que os passos envolvidos na entrada do vírus, a

fusão da membrana, a replicação do genoma, montagem e a libertação final a partir da célula infetada podem ser alvo de moléculas pequenas (12, 17).

Atualmente, os alvos para um antiviral que estão em fases de estudo mais avançadas são a protease NS3/NS2B e NS5 RNA-polimerase RNA-dependente (12, 17).

Novos alvos, incluindo a proteína E, NS3 helicase e NS5 metiltransferase, estão a ser explorados (12, 17). A mudança conformacional da proteína E e a sua interação com a proteína prM tem tido um grande interesse. Estes estados de transição apresentam oportunidades para o desenvolvimento de antivirais contra a fase de entrada, montagem e maturação do ciclo de vida. Outra abordagem para inibir as alterações estruturais da interação da proteína E-prM é a síntese de um péptido que mimetize o péptido pr da proteína M, impedindo assim a fusão da membrana e a libertação das novas partículas virais (2).

Por isso, existem várias opções para a conceção de novas terapêuticas para o Dengue. Contudo, a principal preocupação com a maioria das abordagens terapêuticas é que elas não são válidas para inibir os quatro serotipos do vírus (2).

7.2 VACINAS

Como resultado da falha das estratégias de controlo do vetor, a contínua propagação do vírus do Dengue e o crescente aumento de casos no mundo, é essencial o desenvolvimento de uma vacina segura e acessível à população. Durante várias décadas tentou-se desenvolver uma vacina capaz de proporcionar proteção imunitária. Contudo, existem vários fatores que dificultam o progresso no desenvolvimento da vacina: a patologia complexa da doença; existência de lacunas sobre o conhecimento dos mecanismos envolvidos na indução da resposta imune; a necessidade de controlar quatro serotipos do vírus simultaneamente; a falta de modelos animais para testar a efetividade das vacinas (pois apesar de poderem ser infetados a manifestação clínica é diferente da dos humanos) e investimentos insuficientes (17). O facto que a FHD é associada a uma infeção secundária coloca um desafio ao desenvolvimento de uma vacina para o Dengue, levando à exigência que tais vacinas devem induzir uma resposta imune contra os 4 serotipos em indivíduos *naive* bem como indivíduos previamente imunes (3).

A vacina ideal deve ser efetiva contra os 4 serotipos do vírus (tem de ser tetravalente), promover a imunização de longa duração (5), induzir níveis elevados de anticorpos neutralizantes e não causar o fenómeno ADE (2).

Atualmente, existem quatro tipos de vacinas em diferentes fases de desenvolvimento pré-clínico ou clínico: vacinas vivas atenuadas, vacinas quiméricas vivas atenuadas, vacinas de subunidade ou inativadas, e vacinas de DNA (2, 3, 17).

A vacina em fase de desenvolvimento clínica mais avançada é a vacina quimérica Dengue/Febre Amarela, desenvolvida pela Sanofi Pasteur, que está sob avaliação em estudos clínicos de fase II e III. Esta vacina usa a vacina contra a Febre Amarela como base e substitui os genes E e prM do vírus da Febre Amarela com os genes de cada 4 serotipos do vírus do Dengue (26).

CONCLUSÃO

A infecção pelo vírus do Dengue apresentou uma grande evolução ao longo das últimas duas décadas e os 4 serotipos estão a circular em todo o Mundo. Assim, tornou-se num dos vírus de maior importância para o Homem e num problema para a saúde pública a nível mundial.

Apesar dos progressos que se tem feito na caracterização da estrutura das partículas virais e do ciclo de vida, a patogénese da infecção provocada pelo vírus do Dengue ainda não está totalmente compreendida, principalmente pela falta de um modelo animal adequado e pela falta de investigação sobre a interligação entre as várias teorias que sustentam o conhecimento da patogénese.

Os fatores virais e do hospedeiro, a ativação do sistema do complemento, a ativação de células T e a produção de citocinas podem proteger ou predispor o desenvolvimento da doença. Os mecanismos que levam ao aparecimento da FHD são os Anticorpos Potenciadores da Infecção, a Ativação do Complemento e a desregulação da imunidade mediada por células onde ocorre uma reação cruzada na resposta da célula T ao vírus.

A patogénese das hemorragias encontradas na FHD pode ser explicada pelo aumento da fragilidade capilar uma vez que o vírus do Dengue tem efeitos diretos sobre as células endoteliais, tais como modulação da molécula da superfície da célula e a expressão de recetores de citocinas o que leva ao aumento da permeabilidade celular e coagulopatia.

Atualmente, medidas eficazes para o controlo do vetor *Aedes Aegypti* é a única estratégia para a prevenção da transmissão do vírus do Dengue. Contudo, grandes avanços têm sido feitos no desenvolvimento de medicamentos antivirais e de vacinas. A compreensão do ciclo de vida do vírus tem feito grandes progressos nos últimos anos, e todas as etapas do ciclo de vida pode representar potenciais alvos para a descoberta de antivirais. Em relação às vacinas, várias vacinas candidatas estão em desenvolvimento clínico, da qual a vacina quimérica Dengue/Febre Amarela já está na fase III.

BIBLIOGRAFIA

- (1) FERREIRA, G. L. C. - Global dengue epidemiology trends. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. ISSN 1678-9946. 54 Suppl 18:1 (2012) S5–6.
- (2) BÄCK, A. T.; LUNDKVIST, A. - Dengue viruses - an overview. **Infection ecology & epidemiology**. ISSN 2000-8686. 3 (2013) 1–21. doi: 10.3402/iee.v3i0.19839.
- (3) GUZMAN, M. G. *et al.* - Dengue: a continuing global threat. **Nature reviews. Microbiology**. ISSN 1740-1534. 8:12 Suppl (2010) S7–16. doi: 10.1038/nrmicro2460.
- (4) MARTINA, B. E. E.; KORAKA, P.; OSTERHAUS, A. D. M. E. - Dengue virus pathogenesis: an integrated view. **Clinical microbiology reviews**. ISSN 1098-6618. 22:4 (2009) 564–81. doi: 10.1128/CMR.00035-09.
- (5) QI, R.; ZHANG, L.; CHI, C. - Biological characteristics of dengue virus and potential targets for drug design. **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**. ISSN 1672-9145. 40:2 (2008) 91–101. doi: 10.1111/j.1745-7270.2008.00382.x.
- (6) MALAVIGE, G. N. *et al.* - Dengue viral infections. **Postgraduate medical journal**. ISSN 0032-5473. 80:948 (2004) 588–601. doi: 10.1136/pgmj.2004.019638.
- (7) TANG, K. F.; OOI, E. E. - Diagnosis of dengue: an update. **Expert review of anti-infective therapy**. ISSN 1744-8336. 10:8 (2012) 895–907. doi: 10.1586/eri.12.76.
- (8) SRIKIATKHACHORN, A. - Plasma leakage in dengue haemorrhagic fever. **Thrombosis and haemostasis**. ISSN 0340-6245. 102:6 (2009) 1042–9. doi: 10.1160/TH09-03-0208.
- (9) RODENHUIS-ZYBERT, I. A.; WILSCHUT, J.; SMIT, J. M. - Dengue virus life cycle: viral and host factors modulating infectivity. **Cellular and molecular life sciences: CMLS**. ISSN 1420-9071. 67:16 (2010) 2773–86. doi: 10.1007/s00018-010-0357-z.
- (10) MUKHOPADHYAY, S.; KUHN, R. J.; ROSSMANN, M. G. - A structural perspective of the flavivirus life cycle. **Nature reviews. Microbiology**. ISSN 1740-1526. 3:1 (2005) 13–22. doi: 10.1038/nrmicro1067.
- (11) MURRAY, N. E. A.; QUAM, M. B.; WILDER-SMITH, A. - Epidemiology of dengue: past, present and future prospects. **Clinical epidemiology**. ISSN 1179-1349. 5 (2013) 299–309. doi: 10.2147/CLEP.S34440.
- (12) WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Dengue: Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control**. New ed. Geneva: WHO, 2009. ISBN 978 92 4 154787 1.
- (13) JANSEN, C. C.; BEEBE, N. W. - The dengue vector *Aedes aegypti*: what comes next. **Microbes and infection / Institut Pasteur**. ISSN 1769-714X. 12:4 (2010) 272–9. doi: 10.1016/j.micinf.2009.12.011.
- (14) GUBLER, D. J. - Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. **Trends in microbiology**. ISSN 0966-842X. 10:2 (2002) 100–3.

- (15) TEO, D.; NG, L. C.; LAM, S. - Is dengue a threat to the blood supply? **Transfusion Medicine**. ISSN 1365-3148. 19:2 (2009) 66–77. doi: 10.1111/j.1365-3148.2009.00916.x.
- (16) ST JOHN, A. L.; ABRAHAM, S. N.; GUBLER, D. J. - Barriers to preclinical investigations of anti-dengue immunity and dengue pathogenesis. **Nature reviews. Microbiology**. ISSN 1740-1534. 11:6 (2013) 420–6. doi: 10.1038/nrmicro3030.
- (17) WILDER-SMITH, A. *et al.* - Update on dengue: epidemiology, virus evolution, antiviral drugs, and vaccine development. **Current infectious disease reports**. ISSN 1534-3146. 12:3 (2010) 157–64. doi: 10.1007/s11908-010-0102-7.
- (18) JESSIE, K. *et al.* - Localization of dengue virus in naturally infected human tissues, by immunohistochemistry and in situ hybridization. **The Journal of infectious diseases**. ISSN 0022-1899. 189:8 (2004) 1411–8. doi: 10.1086/383043.
- (19) KYLE, J. L.; BEATTY, P. R.; HARRIS, E. - Dengue virus infects macrophages and dendritic cells in a mouse model of infection. **The Journal of infectious diseases**. ISSN 0022-1899. 195:12 (2007) 1808–17. doi: 10.1086/518007.
- (20) PAES, M. V *et al.* - Liver injury and viremia in mice infected with dengue-2 virus. **Virology**. ISSN 0042-6822. 338:2 (2005) 236–46. doi: 10.1016/j.virol.2005.04.042.
- (21) LIN, C.-F. *et al.* - Expression of Cytokine, Chemokine, and Adhesion Molecules during Endothelial Cell Activation Induced by Antibodies against Dengue Virus Nonstructural Protein 1. **The Journal of Immunology**. ISSN 0022-1767. 174:1 (2004) 395–403. doi: 10.4049/jimmunol.174.1.395.
- (22) SUN, D.-S. *et al.* - Antiplatelet autoantibodies elicited by dengue virus non-structural protein 1 cause thrombocytopenia and mortality in mice. **Journal of thrombosis and haemostasis: JTH**. ISSN 1538-7933. 5:11 (2007) 2291–9. doi: 10.1111/j.1538-7836.2007.02754.x.
- (23) BOZZA, F. A *et al.* - Multiplex cytokine profile from dengue patients: MIP-1beta and IFN-gamma as predictive factors for severity. **BMC infectious diseases**. ISSN 1471-2334. 8:86 (2008) 1-11. doi: 10.1186/1471-2334-8-86.
- (24) LIBRATY, D. H. *et al.* - High circulating levels of the dengue virus nonstructural protein NS1 early in dengue illness correlate with the development of dengue hemorrhagic fever. **The Journal of infectious diseases**. ISSN 0022-1899. 186:8 (2002) 1165–8. doi: 10.1086/343813.
- (25) WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Global strategy for dengue prevention and control**. Geneva: WHO, 2012. ISBN 978 92 4 150403 4.
- (26) LANG, J. - Development of Sanofi Pasteur tetravalent dengue vaccine. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. ISSN 1678-9946. 54 Suppl 18:9 (2012) S15–7.