



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS - ACL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Thaiane Vieira Ferreira Marcolino

**Relação entre os mecanismos de ativação plaquetária e a
resposta inflamatória na dengue: uma revisão narrativa**

Florianópolis

2024

Thaiane Vieira Ferreira Marcolino

**Relação entre os mecanismos de ativação plaquetária e a
resposta inflamatória na dengue: uma revisão narrativa**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Farmacêutico.

Orientador(a): Prof. Dra. Solange Lucia Blatt.

Florianópolis

2024

Marcolino, Thaianne Vieira Ferreira

Relação entre os mecanismos de ativação plaquetária e a resposta inflamatória na dengue: uma revisão narrativa / Thaianne Vieira Ferreira Marcolino ; orientadora, Solange Lúcia Blatt, 2024.

44 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Dengue. 3. Plaquetas. 4. Trombocitopenia. 5. Resposta inflamatória. I. Blatt, Solange Lúcia. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Farmácia. III. Título.

Thaiane Vieira Ferreira Marcolino

**Relação entre os mecanismos de ativação plaquetária e a
resposta inflamatória na dengue: uma revisão narrativa**

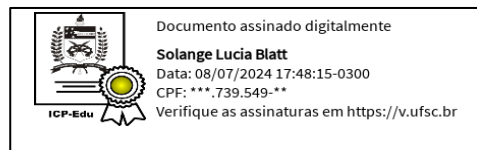
Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Farmacêutico e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Farmácia.

Defesa Online, 28 de Junho de 2024.

**Insira neste espaço
a assinatura**

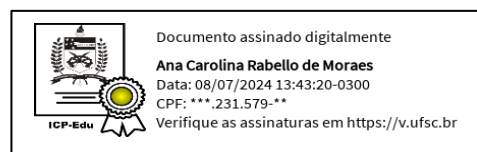
Coordenação do Curso

Banca examinadora



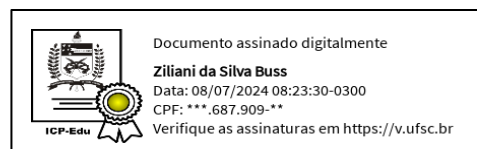
Prof.(a) Solange Lucia Blatt, Dra.

Orientador(a)



Prof.(a) Ana Carolina Rabello de Moraes, Dra.

Instituição Universidade Federal de Santa Catarina - ACL



Prof.(a) Ziliani da Silva Buss, Dra.

Instituição Universidade Federal de Santa Catarina - ACL

Florianópolis, 2024.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Cristiane Vieira Ferreira e Daniel Osvaldo Cabariti, por todo o amor e apoio durante minha trajetória. Desde sempre me incentivaram a pensar diferente, buscar conhecimento e uma melhor qualidade de vida. Obrigada pela liberdade que me foi dada, que me permitiu formar minhas próprias opiniões e perspectivas sobre o mundo. A mulher que me tornei tem muito dos seus valores. Que todo tempo dedicado à minha criação, nos menores detalhes, tornou possível realizar este momento tão significativo. Vocês são a minha referência.

Agradeço ao meu companheiro, Laerson Junior, por sempre acreditar em mim e nos meus sonhos. Sua presença e suporte foram muito importantes para mim. Sou profundamente grata por ter você ao meu lado.

Quero expressar minha gratidão especial à minha orientadora, Solange Lúcia Blatt. Uma pessoa divertida e que eu admiro muito. Seus ensinamentos foram fundamentais para o meu crescimento acadêmico.

Agradeço também aos membros da banca pela dedicação em corrigir e avaliar meu trabalho, assim como por todo o tempo dedicado ao ensino durante minha graduação.

O curso de Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina por ter fornecido toda a estrutura necessária para uma formação gratuita e de qualidade.

A todos que de alguma forma contribuíram para minha formação acadêmica, meu sincero agradecimento.

"Happiness only real when shared"

Christopher McCandless, 1992

RESUMO

A dengue é a arbovirose mais prevalente nas Américas sendo endêmica no Brasil desde 1981, tornando-se assim uma das doenças mais importantes na questão das doenças emergentes e reemergentes. Trata-se de uma doença febril aguda com um amplo espectro clínico, com um desafio significativo em seu manejo, devido à sobreposição de sintomas clínicos e características laboratoriais com outras doenças infecciosas. Pacientes com as formas graves da dengue apresentam elevadas concentrações de citocinas pró-inflamatórias circulantes, levando à ativação endotelial, vazamento vascular, hemorragia e choque hipovolêmico. Embora o papel das células do sistema imunológico na secreção de citocinas pró-inflamatórias durante a infecção por dengue seja bem estabelecido, o papel das plaquetas na patogênese da doença não é completamente compreendido. O objetivo do presente estudo é descrever a participação das plaquetas na resposta imune à infecção pelo vírus da dengue, focando na sua contribuição para a inflamação. Para realizar esta revisão, foi conduzida uma busca nas bases de dados eletrônicas: PubMed, Web of Science e Science Direct, resultando na seleção de 22 artigos publicados nos últimos 12 anos e selecionados de acordo com critérios de conveniência. Os estudos recentes indicam que a ativação plaquetária contribui significativamente para a resposta inflamatória. Plaquetas ativadas liberam diversas citocinas e quimiocinas como CXCL4 (PF4), CXCL8 (IL-8), CCL5 (RANTES) e IL-1 β . Além disso, as plaquetas liberam micropartículas e exossomos que promovem a formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs) e estimulam a produção de citocinas por macrófagos e neutrófilos. Outro achado importante é que as plaquetas na dengue estão envolvidas na ativação do inflamassoma NLRP3, resultando na secreção de IL-1 β e contribuindo para o aumento da permeabilidade vascular. A presença de histonas livres, especialmente H2A, ativam plaquetas e contribuem para a resposta inflamatória. Plaquetas ativadas também expressam níveis elevados de P-selectina, facilitando a interação com leucócitos e células endoteliais. Essa interação induz a secreção de citocinas inflamatórias como IL-1 β e TNF- α . A trombocitopenia observada em pacientes com dengue ocorre devido à diminuição da produção de plaquetas na medula óssea e ao aumento da depuração de plaquetas do sangue periférico, sendo que o estado de ativação das plaquetas determina essa depuração. Esses achados sugerem que intervenções que visam reduzir a ativação plaquetária ou modular a interação das plaquetas podem ser estratégicas no manejo da dengue grave.

Palavras-chave: dengue, plaquetas, trombocitopenia, resposta inflamatória.

ABSTRACT

Dengue is the most prevalent arboviral disease in the Americas, being endemic in Brazil since 1981, and has become one of the most important diseases concerning emerging and reemerging diseases. It is an acute febrile illness with a broad clinical spectrum, presenting significant challenges in its management due to the overlap of clinical symptoms and laboratory features with other infectious diseases. Patients with severe forms of dengue exhibit high concentrations of circulating pro-inflammatory cytokines, leading to endothelial activation, vascular leakage, hemorrhage, and hypovolemic shock. Although the role of immune cells in secreting pro-inflammatory cytokines during dengue infection is well established, the role of platelets in the pathogenesis of the disease is not fully understood. The objective of the present study is to describe the involvement of platelets in the immune response to dengue virus infection, focusing on their contribution to inflammation. To conduct this review, a search was performed in electronic databases: PubMed, Web of Science, and Science Direct, resulting in the selection of 22 articles published in the last 12 years, selected according to convenience criteria. Recent studies indicate that platelet activation significantly contributes to the inflammatory response. Activated platelets release various cytokines and chemokines such as CXCL4 (PF4), CXCL8 (IL-8), CCL5 (RANTES), and IL-1 β . Additionally, platelets release microparticles and exosomes that promote the formation of neutrophil extracellular traps (NETs) and stimulate cytokine production by macrophages and neutrophils. Another important finding is that platelets in dengue are involved in the activation of the NLRP3 inflammasome, resulting in the secretion of IL-1 β and contributing to increased vascular permeability. The presence of free histones, especially H2A, activates platelets and contributes to the inflammatory response. Activated platelets also express elevated levels of P-selectin, facilitating interaction with leukocytes and endothelial cells. This interaction induces the secretion of inflammatory cytokines such as IL-1 β and TNF- α . Thrombocytopenia observed in dengue patients occurs due to decreased platelet production in the bone marrow and increased clearance of platelets from the peripheral blood, with the activation state of the platelets determining this clearance. These findings suggest that interventions aimed at reducing platelet activation or modulating platelet interaction may be strategic in managing severe dengue.

Keywords: dengue, platelets, thrombocytopenia, inflammatory response.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do vírus da Dengue.....	18
Figura 2. Dinâmica dos filamentos de actina em plaquetas no processo de ativação.....	22
Figura 3 - Subversão da sinalização do interferon pelo vírus da Dengue.....	27
Figura 4. Principais Agonistas e Mecanismos de Ativação Plaquetária.....	28
Figura 5. Modulação das plaquetas nas células imunológicas.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADE	Amplificação dependente de anticorpos
ADP	Adenosina difosfato
Ang-2	Angiopietina-2
ATP	Adenosina trifosfato
C	Capsídeo
C3	Componente 3 do complemento
C5b-9	Complexo de ataque à membrana
CAM-1	Molécula de adesão celular 1
CCL	Ligante da quimiocina do tipo CC
CD	Grupamento de diferenciação
CD4 ⁺	Células T CD4 ⁺
CD8 ⁺	Células T CD8 ⁺
CD40L	Ligante do CD40
CD62P	P-selectina
CHIKV	Vírus Chikungunya
Claudin-1	Claudina-1
CLEC5	Receptor do tipo lectina tipo C
CRP	Proteína C reativa
CXCL	Ligante de quimiocina do tipo CXC
DC-SIGN	Receptor de célula dendrítica específico
DENV	Vírus da dengue
DF	Febre da dengue
E	Proteína do envelope
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FHD	Febre hemorrágica da dengue
GM-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos
H2A	Histonas
HUVECs	Células endoteliais umbilicais humanas
IFNs	Interferons
IgG antiDEN	Imunoglobulina G anti-dengue
IL	Interleucina
IL-1RA	Antagonista do receptor de interleucina 1
IP-10	Proteína 10 induzida por interferon gama
IRF	Fator regulador do interferon

LPS	Lipopolissacarídeo
M	Proteína da membrana
MCP-1	Proteína quimioatraente de monócitos 1
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
MIP-1 α	Proteína inflamatória de macrófagos 1 alpha
MIP-1 β	Proteína inflamatória de macrófagos 1 beta
moDCs	Células dendríticas derivadas de monócitos
MPs	Micropartículas plaquetárias
NETs	Armadilhas extracelulares de neutrófilos
NF- κ B	Fator nuclear kappa b
NK	Células Natural Killer
NS	Proteínas não estruturais
PAC1	Anticorpo monoclonal
PAF	Fator ativador de plaquetas
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
PF4	Fator plaquetário 4
PLT-EXOs	Exossomos derivados de plaquetas
prM	Pré-membrana
PS	Fosfatidilserina
PSGL-1	Ligante da glicoproteína p-selectina 1
RANTES	Regulada sob ativação, expressa e secretada normalmente em células T
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SAA	Amiloide A sérica
SASH	Camundongos deficientes em mastócitos
SCD	Síndrome do choque da dengue
STAT1	Transdutor de sinal e ativador de transcrição 1
STAT2	Transdutor de sinal e ativador de transcrição 2
sICAM-1	Molécula de adesão intercelular solúvel 1
sVCAM-1	Molécula de adesão vascular solúvel 1
TLR	Receptor Toll-like
TMRE	Tetrametilrodamina etil éster
TNF- α	Fator de necrose tumoral α
TRAP	Peptídeo ativador do receptor de Trombina
VE-Caderina	Caderina vascular endotelial
ZIKV	Vírus Zika

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	PARTICULA VIRAL	18
1.2	PATOGÊNESE DA DENGUE	19
1.3	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA DENGUE	20
1.3.1	Febre da Dengue (DF)	20
1.3.2	Febre Hemorrágica da Dengue (FHD)	20
1.3.3	Síndrome do Choque da Dengue (SCD)	21
1.4	IMUNOHEMOSTASIA.....	22
2	OBJETIVO	24
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
3	METODOLOGIA.....	25
3.1	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO DE ARTIGOS	25
3.2	SELEÇÃO DOS ARTIGOS	25
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1	RESPOSTA INFLAMATÓRIA NA DENGUE	26
4.2	PLAQUETAS NA INFECÇÃO POR DENV.....	28
4.3	PAPEL DAS MICROPARTÍCULAS E EXOSSOMOS DE PLAQUETAS	32
4.4	INTERAÇÃO DAS PLAQUETAS COM CÉLULAS IMUNES	33
4.5	MEDIADORES ATIVADORES DE PLAQUETAS	35
4.6	PRODUÇÃO DE CITOCINAS E MEDIADORES INFLAMATÓRIOS	38
5	CONCLUSÃO	40
	REFERÊNCIAS.....	41

1 INTRODUÇÃO

A dengue é a arbovirose mais prevalente nas Américas. Consiste em uma doença viral, transmitida por artrópodes hematófagos durante o repasto sanguíneo (SILVA *et al.*, 2021). Seu agente etiológico é o vírus da dengue (DENV), que no Brasil são transmitidos por mosquitos fêmea da espécie *Aedes aegypti*, amplamente distribuídos em regiões tropicais e subtropicais deste país (BRASIL, 2023).

A dengue é endêmica no Brasil desde 1981, tornando-se assim uma das doenças mais importantes na questão das doenças emergentes e reemergentes (CÂMARA *et al.*, 2007). No contexto atual, os arbovírus de maior circulação no Brasil são Dengue (DENV), Chikungunya (CHIKV) e Zika vírus (ZIKV), embora existam outros com potencial de disseminação no país. Com frequência, os quadros graves são conhecidos somente após circulação viral em extensas epidemias, muitas vezes mostrando impacto imprevisível na morbidade e mortalidade (DONALISIO; FREITAS; ZUBEN, 2017).

A febre da dengue é classicamente uma doença autolimitada e inespecífica. Mas em alguns casos, a doença pode evoluir para formas mais graves, como a Febre Hemorrágica da Dengue (FHD) e a Síndrome do Choque da Dengue (SCD), representando um risco significativo à vida do paciente (ADANE; GETAWA, 2021). Atualmente, não há tratamento específico para a dengue ou suas formas graves. O tratamento da dengue é baseado em medidas de suporte e varia conforme a classificação clínica dos pacientes, que é dividida em quatro grupos (A, B, C e D), levando em consideração a presença de sinais de alarme, gravidade da doença e comorbidades (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2024).

Existem cerca de cinco sorotipos conhecidos do complexo Dengue Vírus (DENV): DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4 e DENV-5. A circulação dos sorotipos de 1 a 4 é observada no Brasil, enquanto o DENV-5 prevalece predominantemente no continente asiático (MUSTAFA *et al.*, 2015). A coexistência de múltiplos sorotipos do vírus em uma região contribui para a incidência de casos graves (HALSTEAD, 2007).

Quanto aos fatores de risco para a evolução da dengue para suas formas graves, alguns grupos populacionais vulneráveis precisam ser considerados. A infecção por dengue tende a ser mais grave em mulheres, especialmente durante a gravidez. Além disso, a febre hemorrágica da dengue (FHD) e a síndrome do choque da dengue (SCD) são mais propensas a ocorrer em bebês e idosos. Pacientes com doenças crônicas, como diabetes mellitus ou asma, também apresentam um risco elevado de desenvolver formas graves da doença. Embora a desnutrição predisponha a muitas doenças infecciosas, ela não parece aumentar a probabilidade de dengue

grave. Outro fator importante é o sorotipo do vírus infectante, que pode influenciar significativamente a gravidade da infecção por dengue (RAJAPAKSE, 2011).

A dengue é uma doença complexa com amplo espectro de apresentações clínicas, que muitas vezes é erroneamente diagnosticada como outras doenças tropicais. Não existem marcadores confiáveis para prever o desenvolvimento das manifestações graves. A falta de marcadores preditivos e tratamentos específicos é consequência de lacunas na compreensão dos mecanismos subjacentes da dengue (SRIKIATKHACHORN; MATHEW; ROTHMAN, 2017).

As principais manifestações da dengue grave (FHD e SCD), incluem extravasamento de plasma devido à elevada permeabilidade vascular, hemorragia e trombocitopenia (KURANE, 2007). Estes estão frequentemente associados a uma "tempestade de citocinas", caracterizada por uma elevação na concentração de citocinas pró-inflamatórias. Essa resposta inflamatória exagerada desencadeia a ativação endotelial e o subsequente extravasamento vascular. A tempestade de citocinas é acompanhada pela ativação do sistema de coagulação, liberação de proteínas de fase aguda, receptores solúveis e outros mediadores da inflamação (GUABIRABA; RYFFEL, 2014).

Células do sistema imunológico, como monócitos, macrófagos, células dendríticas, células endoteliais e linfócitos T, desempenham um papel crucial na secreção de citocinas pró-inflamatórias durante a infecção por dengue (SRIKIATKHACHORN; MATHEW; ROTHMAN, 2017). Entretanto, apesar da trombocitopenia ser uma marca registrada da infecção por dengue, o papel desempenhado pelas plaquetas na patogênese da dengue não é completamente compreendido (HOTTZ *et al.*, 2014).

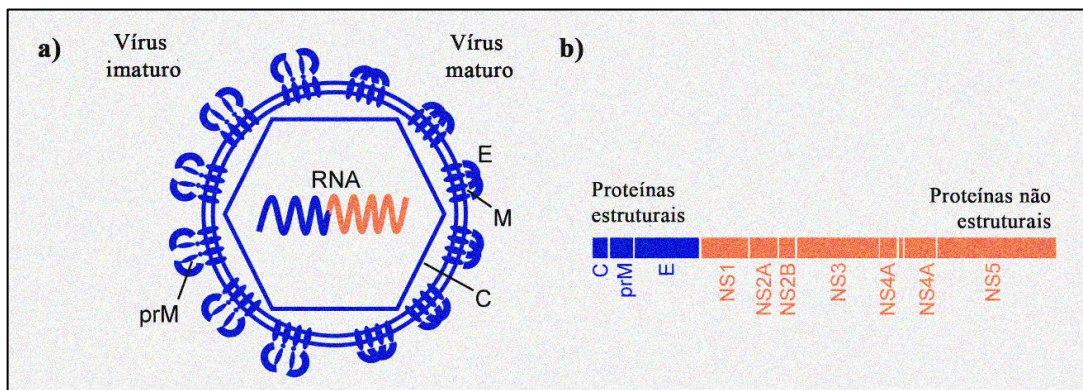
Entender a dengue como uma doença dinâmica é fundamental. Na dengue, múltiplos mecanismos estão envolvidos na resposta inflamatória, em especial o mecanismo de ativação plaquetária. A investigação dessas interações complexas é necessária para melhor compreender a gravidade da doença (PORTILHO; LIMA; CAIRES, 2022). A ausência de um tratamento específico destaca ainda mais a necessidade de estudos dedicados a desvendar a fisiopatologia subjacente, visto que a compreensão ainda é incompleta (PORTILHO; LIMA; CAIRES, 2022).

1.1 PARTICULA VIRAL

O vírus da Dengue (DENV) é da família Flaviviridae e membro do gênero Flavivírus. Consiste em um vírus esférico, com um diâmetro de 40 a 50nm, envelopado, cujo genoma é constituído por um RNA de fita simples e polaridade positiva (ALVAREZ *et al.*, 2005). A partícula viral inclui proteínas estruturais, como o capsídeo (C), a proteína da membrana (M) e a proteína do envelope (E). Além de sete proteínas não estruturais (NS), incluindo NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5, envolvidas na replicação viral (GUZMAN *et al.*, 2010).

As proteínas de membrana (M) e de envelope (E), apresentam diferentes conformações dependendo do estágio de maturação do vírus (Figura 1). Na fase imatura, as glicoproteínas E e pré-membrana (prM) estão associadas, formando heterodímeros que compõem a envoltória viral. Para que essas partículas se tornem infecciosas, é necessário um processo de maturação que envolve a clivagem da proteína prM pela enzima furina. Com a maturação, as proteínas são rearranjadas na superfície viral, formando uma estrutura tridimensional (OLIVEIRA, 2012).

Figura 1 - Estrutura do vírus da Dengue e Organização das proteínas traduzida do RNA viral.



Fonte: Adaptado de HUANG *et al.*, 2022.

A proteína E está envolvida tanto no reconhecimento do receptor da célula hospedeira quanto na fusão do vírus à membrana durante a entrada na célula, sendo o principal alvo de anticorpos neutralizantes. Dividida em três domínios funcionais (I central, II de dimerização, e III de ligação aos receptores), a proteína E existe na forma de dímeros e se reorganiza em trímeros sob pH baixo, como no endossomo (MURUGESAN; MANOHARAN, 2020).

A proteína não estrutural NS1 é altamente imunogênica, sendo uma glicoproteína presente em diferentes formas: associada a organelas intracelulares, ancorada à membrana ou secretada de células infectadas. A forma secretada regula a ativação do complemento, que produz fortes respostas humorais (LINDENBACH; RICE, 2003). A NS1 é encontrada no plasma, sendo utilizada como ferramenta de diagnóstico (OLIVEIRA, 2012).

1.2 PATOGÊNESE DA DENGUE

A fisiopatologia da dengue envolve uma complexa interação entre o vírus, o sistema imunológico do hospedeiro e fatores vasculares. Após a transmissão pelo mosquito infectado, o vírus inicialmente se replica nas células dendríticas próximas ao local de inoculação. Em seguida, dissemina-se pelo organismo, infectando monócitos, macrófagos e células musculares, o que explica a mialgia observada durante a doença (LUPI; CARNEIRO; COELHO, 2007).

A resposta imunológica do hospedeiro apresenta uma dualidade, por um lado, é essencial para controlar e eliminar o vírus, mas, paradoxalmente, algumas respostas podem agravar a doença. Halstead (2014) propôs a teoria da amplificação dependente de anticorpos (ADE). Na primeira infecção, o corpo produz anticorpos específicos para um sorotipo. Em uma segunda infecção por um sorotipo diferente, esses anticorpos não neutralizam o vírus e produzem uma reação cruzada. Os imunocomplexos formados suprimem os sistemas antivirais inatos, facilitando a entrada do vírus nas células imunes, como monócitos e macrófagos, permitindo uma replicação viral intracelular aprimorada. Assim, os anticorpos podem potencializar a segunda infecção por diferentes sorotipos de DENV (HALSTEAD, 2014).

A evidência mais forte de que os anticorpos são suficientes para potencializar infecções por dengue é a ocorrência regular de FHD/SCD em bebês com menos de um ano de idade durante sua primeira infecção por dengue (HALSTEAD, 2003). Estes anticorpos, especificamente os IgG antiDEN, são transferidos da mãe para o bebê via transplacentária. Os bebês nascidos de mães com imunidade estabelecida ao vírus da dengue constituem, portanto, um grupo especial de alto risco para FHD (SIMMONS *et al.*, 2007).

A ativação de células de memória com reatividade cruzada ocorre de forma complementar. As células apresentadoras de antígeno capturam proteínas virais sintetizadas e as apresentam nas vias do MHC aos linfócitos T. Devido à alta homologia (70%) entre os quatro sorotipos do DENV, os linfócitos T reagem a mais de um sorotipo. Os epítomos variantes modificam a resposta dos linfócitos T, induzindo um perfil alterado de citocinas e a lise de células alvo, fenômeno conhecido como pecado antigênico original (ROTHMAN, 2011).

Inicialmente, acreditava-se que as citocinas pró-inflamatórias fossem produzidas por linfócitos T altamente reativos. Entretanto, estudos posteriores revelaram que os linfócitos T são encontradas em baixas quantidades durante a fase aguda, produzindo pequenas quantidades dessas citocinas. Sugere-se que os linfócitos T possam, na verdade, exercer um papel protetor. Assim, é mais provável que outras células hematopoiéticas, como células dendríticas,

monócitos e macrófagos, diretamente infectadas pelo DENV, sejam a principal fonte de citocinas através da ativação de vias imunes inatas (MALAVIGE; OGG, 2017).

Embora em taxas menores, a infecção primária por DENV também pode levar à manifestação grave da doença. Isso pode ser explicado por uma combinação de carga viral elevada e virulência da cepa. Há correlação entre títulos virais mais elevados e o sorotipo do vírus infectante (COSTA *et al.*, 2013). O DEN-2 é considerado o mais virulento, seguido pelo DEN-3 (LUPI; CARNEIRO; COELHO, 2007).

O dano às células endoteliais por infecção ou morte celular extensa não parece ser responsável pelo aumento da permeabilidade vascular associado a dengue. Na verdade, os pacientes que estão se recuperando da FHD recuperam a função endotelial normal de forma relativamente rápida, o que implica que a causa da permeabilidade vascular é mais reversível (GUZMÁN, 2016). Nesse sentido, é amplamente aceito que o processo de eliminação de células infectadas por DENV gera uma cascata de quimiocinas e citocinas que, atinge o endotélio vascular levando ao aumento da permeabilidade vascular (HALSTEAD, 2014).

1.3 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA DENGUE

1.3.1 Febre da Dengue (DF)

A dengue clássica é uma forma comum e menos grave da infecção. Esta condição é caracterizada por um período de incubação de 4 a 7 dias após a picada do mosquito *Aedes aegypti* infectado pelo vírus (RATHORE *et al.*, 2020). Essa manifestação clínica é observada com maior frequência em adultos e adolescentes e pode se apresentar apenas com febre leve ou uma doença mais incapacitante. Os sintomas característicos envolvem o início súbito de febre alta e uma variedade de sinais e sintomas inespecíficos, incluindo dor de cabeça, dor retro orbital, mialgia, artralgia, náuseas e vômitos, anorexia, fraqueza e erupções cutâneas. É comum observar leucopenia e moderada trombocitopenia nos exames laboratoriais (GUBLER, 1998).

Em certos casos, há também uma tendência ao sangramento, evidenciado pelas manifestações hemorrágicas cutâneas, incluindo petéquias e púrpura, são as mais comuns, juntamente com sangramento gengival, epistaxe, menorragia e hemorragia gastrointestinal (SRICHAIKUL; NIMMANNITYA, 2000).

1.3.2 Febre Hemorrágica da Dengue (FHD)

O principal aspecto que diferencia a Febre Hemorrágica da Dengue (FHD) é o extravasamento plasmático. Assim, o termo coloca uma ênfase inadequada na hemorragia, mesmo que essa não seja sua característica mais distintiva (NANAWARE *et al.*, 2021).

O aumento da permeabilidade vascular, resulta no acúmulo de líquido nas cavidades pleural e peritoneal, e à redução da pressão arterial e da pressão de pulso, resultando em má perfusão dos órgãos (MALAVIGE; OGG, 2017). Ocorre principalmente em crianças com menos de 15 anos de idade e até 2% do total de casos de DENV apresentam progressão da infecção para condições graves (NANAWARE *et al.*, 2021).

A febre hemorrágica da dengue inicia de forma semelhante ao dengue clássico, com febre (ocasionalmente 40 a 41 °C), mantendo-se elevada por período de 2 a 7 dias, quando então apresenta queda súbita (SERUFO *et al.*, 2000). As manifestações hemorrágicas na dengue podem ser evidenciadas pelo teste do torniquete positivo. O teste deve ser realizado na triagem, obrigatoriamente, em todo paciente com suspeita de dengue (BRASIL,2024).

Outras manifestações cutâneas incluem a presença de equimoses e púrpura. Já os sangramentos internos podem se manifestar através de sangramentos da mucosa, trato gastrointestinal, epistaxe, gengivorragia e até mesmo em locais de injeções recentes. Em casos mais graves, a hematêmese (vômito de sangue) e a melena pode ocorrer (KURANE, 2007).

A febre hemorrágica é definida como a presença de febre, com ou sem manifestações hemorrágicas, associada a trombocitopenia com valores inferiores a 100.000/mm³, além de pelo menos um sinal indicativo de extravasamento plasmático (SERUFO *et al.*, 2000). Para identificar a presença de extravasamento plasmático, é necessário observar ao menos uma das seguintes condições: um aumento do hematócrito que seja igual ou superior a 20% em relação à média estabelecida para a idade, sexo e população do paciente; presença de derrame pleural, acúmulo de líquido na cavidade abdominal, ou hipoproteinemia (KURANE, 2007).

1.3.3 Síndrome do Choque da Dengue (SCD)

A Síndrome do Choque da Dengue (SCD) representa o estágio mais severo da doença. Clinicamente, manifesta-se por insuficiência circulatória, pressão arterial reduzida, dor abdominal contínua, vômitos, alternância entre inquietação e letargia, além de uma transição acelerada de febre para hipotermia acompanhada de sudorese. O choque induzido pela dengue ocorre durante a defervescência e num momento em que os títulos virais estão caindo, indicando uma provável causa imunomediada (MULLER; ALEXANDRA; YOUNG, 2017).

O choque hipovolêmico surge devido à perda significativa de volume plasmático. Distúrbios na hemostasia são evidentes, como aumento na fragilidade capilar (indicado por teste do torniquete positivo e propensão a hematomas), trombocitopenia e comprometimento da função plaquetária (GUBLER, 1988).

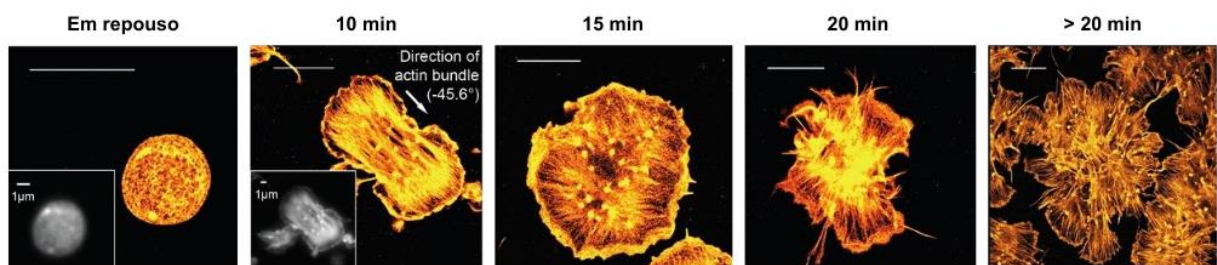
1.4 IMUNOHEMOSTASIA

As plaquetas são fundamentais não apenas para a hemostasia e a manutenção da integridade vascular, mas também desempenham um papel crucial na vigilância imunológica (DELVAEYE; CONWAY, 2009). Apesar de seu papel na hemostasia ser bem estabelecido, a compreensão do seu papel como células efetoras na resposta inflamatória e imunológica está em constante evolução (VIEIRA-DE-ABREU *et al.*, 2011).

As plaquetas são pequenos fragmentos celulares anucleados presentes no sangue. Suas características incluem uma membrana plasmática externa que envolve organelas citoplasmáticas, como grânulos α , corpos densos (grânulos δ) e lisossomos (WHITE, 2007). Para manter a contagem normal de plaquetas, que varia entre 150.000 e 400.000 por microlitro de sangue, novas plaquetas precisam ser produzidas diariamente a partir de megacariócitos na medula óssea (AZEREDO; MONTEIRO; PINTO, 2015).

Quando as plaquetas encontram estímulos como lesão na parede do vaso ou presença de patógenos, ocorre o início do processo de ativação plaquetária causando uma mudança de formato mediada pela actina (Figura 2). A estrutura modifica-se de esferas discoides lisas para esferas espinhosas. Este processo é iniciado por um influxo de cálcio (Ca^{+2}), que promove a formação de pseudópodes. Durante esta reação, o número de receptores na membrana plaquetária para proteínas adesivas e de coagulação aumenta, e as plaquetas ativadas atraem outras plaquetas, que se agregam (AZEREDO; MONTEIRO; PINTO, 2015).

Figura 2 - Dinâmica dos filamentos de actina em plaquetas no processo de ativação.



Fonte: Adaptado de CHUNG *et al.*, 2021.

Plaquetas estimuladas respondem rapidamente com a secreção de proteínas estocadas em forma de grânulos (FLAUMENHAFT; SHARDA, 2019). Os grânulos α são as organelas mais abundantes em plaquetas, eles possuem proteínas de coagulação, fatores de crescimento, glicoproteínas de adesão (fibrinogênio, fator de von Willebrand), mediadores inflamatórios e proteínas estruturais (P-selectina, integrina $\alpha\text{IIb}\beta 3$). Enquanto os grânulos densos armazenam

substâncias como ADP, ATP, histamina, cálcio e pirofosfatos, que são fundamentais para a agregação plaquetária (RIVERA *et al.*, 2009; FLAUMENHAFT; SHARDA, 2019).

Quando ativadas, as plaquetas liberam uma variedade de quimiocinas e citocinas, como CXCL1, CXCL4 (PF4), CXCL5, CXCL7, CXCL8 (IL-8), CXCL12, CCL3 (MIP-1 α), e CCL5 (RANTES) estocados nos grânulos α plaquetários. O principal efeito dessas citocinas é regular as funções inflamatórias, como migração de leucócitos, fagocitose e geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) (CHEN *et al.*, 2020). A quimiocina mais abundante é a PF4, que tem uma ampla gama de atividades relacionadas à imunidade inata, incluindo efeitos sobre os monócitos e quimiotaxia de neutrófilos (STOREY; THOMAS, 2015).

A ativação plaquetária engloba alterações morfológicas, sinalização de dentro para fora da superfície plaquetária através de integrinas (como α IIb β 3), que são responsáveis pela mediação da agregação plaquetária, e desgranulação, resultando na liberação de moléculas solúveis ou translocação de proteínas transmembrana. Esses eventos amplificam a adesão das plaquetas à parede vascular ou aos leucócitos. Por exemplo, a P-selectina é translocada para a membrana da superfície plaquetária após um estímulo de ativação e interage com o receptor PSGL-1, promovendo a interação entre plaquetas e leucócitos (HAPSARI PUTRI *et al.*, 2018).

As plaquetas expressam moléculas do MHC classe I de forma intracelular. Quando ativadas, essas moléculas são redistribuídas para a superfície, permitindo a apresentação direta de antígenos aos linfócitos T e promovendo sua ativação, o que regula a resposta imunológica adaptativa. Plaquetas ativadas também liberam substâncias solúveis no plasma, como o ligante CD40 (sCD40L), P-selectina (sP-selectina) e serotonina (SCHERLINGER *et al.*, 2023).

O ligante CD40 (CD40L) é translocado para a superfície celular após a ativação. Ao interagir com CD40 em linfócitos B, monócitos, células dendríticas, macrófagos e células endoteliais, modula a atividade dessas células. Essa interação induz a liberação de moléculas de adesão no endotélio, como ICAM-1, VCAM-1 e CCL2 (CHEN *et al.*, 2020), e promove a maturação das células dendríticas por meio do contato direto com CD40L (SINGH *et al.*, 2020).

As plaquetas respondem à presença de patógenos e padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). Foi demonstrado a capacidade das plaquetas em reconhecer diretamente o lipopolissacarídeo (LPS) através do receptor Toll-like 4 (TLR4), resultando em uma resposta distinta da clássica ativação plaquetária. Estudos indicam que a trombocitopenia induzida por LPS depende da expressão de TLR4 nas plaquetas (CLARK *et al.*, 2007). Enquanto agonistas tradicionais como trombina ou colágeno induzem agregação, o LPS não provoca esses efeitos, mas promove uma forte ligação entre plaquetas e neutrófilos. Esta interação é crucial para a formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs) (CLARK *et al.*, 2007).

2 OBJETIVO

O presente estudo tem como objetivo relacionar os mecanismos de ativação plaquetária com a inflamação da dengue.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Descrever a interação entre plaquetas e células imunológicas.
- b) Destacar os principais marcadores da ativação plaquetária na dengue.
- c) Esclarecer os mecanismos que regem a ativação plaquetária na dengue.

3 METODOLOGIA

Este estudo tem como metodologia uma revisão narrativa. Com essa finalidade será conduzida uma busca abrangente nas principais bases de dados eletrônicas: PubMed, Web of Science e Science Direct. Os critérios de inclusão para a seleção dos artigos serão baseados na relevância do conteúdo para o tema proposto, com preferência por estudos publicados nos últimos 12 anos. Dessa forma, garantimos uma análise dos avanços mais recentes na dengue.

A busca foi realizada utilizando as seguintes palavras-chaves: “platelets”, “inflammatory response”, “dengue”, “thrombocytopenia”, “dengue pathogenesis” “platelet activation” e termos associados. Após a identificação dos artigos, foram selecionados aqueles com maior conveniência para o tema proposto, sem restrições quanto ao idioma.

3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO DE ARTIGOS

Os critérios para a inclusão de artigos são estudos que aborde a relação entre ativação plaquetária e a resposta inflamatória na dengue. Também será incluído pesquisas que investigam os efeitos das plaquetas ativadas na produção de citocinas pró-inflamatórias. Estudos que examinam a trombocitopenia como um aspecto da resposta imune a dengue e sua relação com a resposta inflamatória.

Foram excluídos estudos que se concentram em populações específicas de idade ou que apresentem comorbidades adjacentes. Também foram excluídos artigos que não estão disponíveis em texto completo.

3.2 SELEÇÃO DOS ARTIGOS

Foram identificados um total de 52 artigos no PubMed, 74 no Web of Science e 475 no Science Direct. Uma avaliação preliminar dos títulos e resumos desses artigos permitiu a seleção daqueles que atendiam aos critérios de inclusão estabelecidos na metodologia. No total, 22 artigos foram considerados adequados para esta revisão narrativa.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 RESPOSTA INFLAMATÓRIA NA DENGUE

A resposta inflamatória ao DENV deriva de mecanismos imunológicos que integram tanto imunidade inata quanto a adaptativa (CHAUDHARY *et al.*, 2022). As células dendríticas, monócitos e macrófagos são os principais alvos do DENV (JOHN; LIN; PERNG, 2015). Estes leucócitos expressam receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) que detectam padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) (FERNANDES-SANTOS; AZEREDO, 2022).

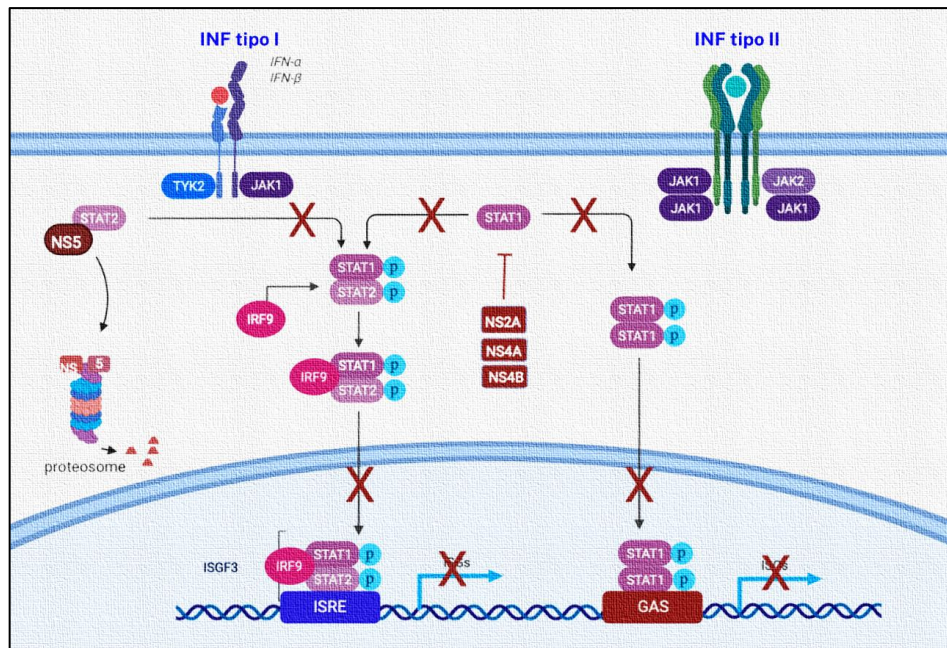
A detecção de componentes virais é uma etapa crítica na resposta imunológica. Os receptores Toll-like (TLRs) são essenciais na detecção de componentes virais específicos e na indução da produção de interferons (IFNs) e outras citocinas inflamatórias. Essas moléculas são cruciais para uma resposta antiviral eficiente. No entanto, respostas desreguladas podem contribuir para a inflamação na dengue (FERNANDES-SANTOS; AZEREDO, 2022).

A imunidade inata atua como a primeira linha de defesa contra infecções virais, no qual os interferons tipo I são um dos principais mediadores (KHANAM *et al.*, 2022). Os TLR desencadeiam vias de sinalização intracelular que culminam na ativação dos fatores de transcrição da imunidade inata, como IRF3, IRF7 e NF- κ B. Esses fatores dirigem a transcrição e secreção de IFN- α e IFN- β , que atuam de forma autócrina e parácrina para criar um ambiente intracelular antiviral hostil à produção de vírions (KING; WEGMAN; ENDY, 2020).

O DENV desenvolveu várias estratégias para evadir a resposta imune do hospedeiro. Proteínas não estruturais do DENV, como NS2A, NS4A e NS4B, inibem a fosforilação de STAT1, enquanto a proteína NS5 medeia a degradação proteasomal de STAT2 (Figura 3). A degradação de STAT2 impede a formação do heterodímero STAT1/STAT2, crucial para a transdução do sinal de IFN- α e IFN- β (KING; WEGMAN; ENDY, 2020). Com a evasão da resposta imune inata, ocorre maior replicação viral nas células-alvo e, conseqüentemente, as células imunes são recrutadas e produzem mediadores inflamatórios de forma exacerbada, causando danos a múltiplos órgãos (FERNANDES-SANTOS; AZEREDO, 2022).

Um estudo *post-mortem* de dengue realizou uma análise imunohistoquímica e quantificação da concentração de citocinas em diferentes órgãos periféricos. O estudo demonstrou um aumento de células produtoras de TNF- α , IFN- γ e RANTES em tecidos do fígado, pulmões e rins. Essas citocinas pró-inflamatórias são conhecidas por sua capacidade de aumentar a permeabilidade vascular, uma característica fundamental da DHF e DSS. Enquanto a imunohistoquímica revelou infiltração significativa de células mononucleares nesses órgãos, confirmando a resposta inflamatória induzida pelo DENV (PÓVOA *et al.*, 2016).

Figura 3 - Subversão da sinalização do interferon pelo vírus da Dengue.



A via de sinalização de interferon tipo I (IFN- α e IFN- β) é ilustrada, mostrando como a proteína NS5 do vírus da dengue impede a fosforilação e ativação de STAT1, e como a proteína NS5 promove a degradação de STAT2 através do proteossoma, inibindo a formação do complexo ISGF3 e, conseqüentemente, a transcrição de genes induzidos por IFN (ISRE). Fonte: KING; WEGMAN; ENDY, 2020.

A resposta humoral envolve a produção de anticorpos neutralizantes ou subneutralizantes contra o vírus. Um estudo com 133 casos pediátricos de dengue mostrou uma associação significativa entre títulos de anticorpos subneutralizantes e cargas virais de DENV com a gravidade da doença, fornecendo evidências do fenômeno ADE. Pacientes com títulos baixos a intermediários de anticorpos preexistentes anti-DENV (na faixa de 1:21 a 1:80) apresentaram as maiores cargas virais e maior risco de desenvolver formas graves da doença. Enquanto aqueles com títulos de anticorpos altos tiveram menores cargas virais e menor gravidade. Indicando que níveis altos de anticorpos podem fornecer uma proteção eficaz contra infecções graves pelo DENV (WAGGONER *et al.*, 2020). Nesse sentido, os anticorpos preexistentes na dengue, podem tanto exacerbar quanto mitigar a gravidade da infecção.

Um estudo realizado por Patro *et al.* (2019) mediu 41 tipos de citocinas e quimiocinas para identificar biomarcadores inflamatórios associados à gravidade da dengue. Os níveis de GM-CSF, IFN- γ , IL-10, IL-15, IL-8, MCP-1, IL-6, MIP-1 β e TNF- α foram significativamente aumentados na dengue, em comparação com controles saudáveis. Entre as citocinas estudadas, quatro se destacaram por sua correlação com a gravidade da doença: IFN- γ , GM-CSF, IL-10 e MIP-1 β . Essas citocinas correlacionaram-se significativamente com a gravidade da doença e poderiam servir como potencial preditor da gravidade dela (PATRO *et al.*, 2019).

Conhecida por suas propriedades anti-inflamatórias, a IL-10 é responsável por suprimir a resposta imune, o que pode ser benéfico para evitar danos excessivos aos tecidos causados por uma inflamação (PATRO *et al.*, 2019). No entanto, durante a infecção aguda por DENV, concentrações elevadas de IL-10 estão associadas à supressão das respostas imunes específicas ao vírus, particularmente as mediadas pelos linfócitos T (MALAVIGE *et al.*, 2013).

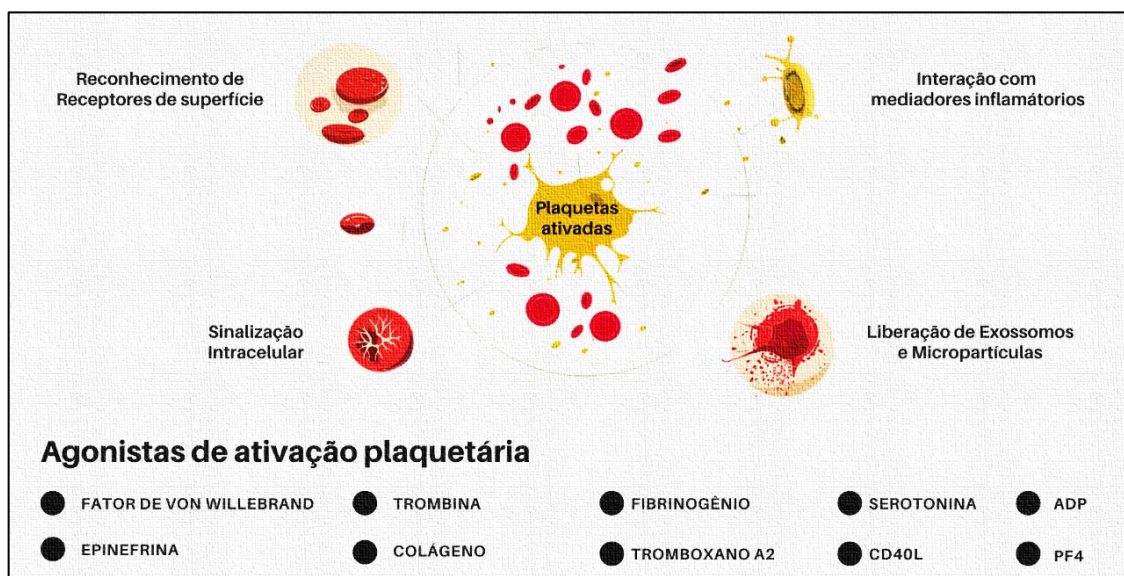
A principal fonte de IL-10 durante a infecção aguda por DENV são os monócitos (MALAVIGE *et al.*, 2013). De acordo com o estudo, a IL-10 mostrou ter um efeito seletivo nas respostas imunes específicas ao DENV durante a infecção da dengue, sem influenciar as respostas dos linfócitos T de peptídeos virais não relacionados à dengue. Pacientes com níveis mais altos de IL-10 sérico apresentaram menor frequência de respostas específicas de células T para o DENV-NS3. A inibição da IL-10 *in vitro* aumentou significativamente a produção de IFN- γ e produção de TNF- α (MALAVIGE *et al.*, 2013).

4.2 PLAQUETAS NA INFECÇÃO POR DENV

Na dengue, a trombocitopenia é um achado clínico comum, e ocorre principalmente devido à diminuição da produção de plaquetas na medula óssea e ao aumento da depuração de plaquetas do sangue periférico (AZEREDO; MONTEIRO; PINTO, 2015), sendo que o estado de ativação das plaquetas durante a infecção por DENV determina a depuração plaquetária pelas células fagocíticas (VEDPATHAK *et al.*, 2024).

As plaquetas são ativadas ao interagir com patógenos através dos receptores de superfície ou através de proteínas plasmáticas (SINGH *et al.*, 2020).

Figura 4 - Principais Agonistas e Mecanismos de Ativação Plaquetária.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Durante a infecção por dengue, as plaquetas desempenham um papel crítico na resposta inflamatória através da ativação do inflamassoma NLRP3, resultando na ativação da caspase-1 e na secreção de IL-1 β . Estudos demonstraram que as plaquetas de pacientes com dengue contêm tanto a forma precursora quanto a forma madura de IL-1 β . Quando ativas, as plaquetas liberam micropartículas (MPs) ricas em IL-1 β . Esse processo depende da ativação do inflamassoma NLRP3, o qual é ativado por vias envolvendo quinases e geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) pelas mitocôndrias. A ativação do inflamassoma e a subsequente liberação de MPs se correlacionaram com sinais de aumento da permeabilidade vascular característico da dengue (HOTTZ *et al.*, 2013).

A expressão de superfície da P-selectina foi notavelmente elevada em pacientes diagnosticados com dengue, especialmente aqueles que apresentavam sinais de alerta ou síndromes graves, quando comparados com casos de dengue leve (HOTTZ *et al.*, 2014; TRUGILHO *et al.*, 2017). A P-selectina é uma glicoproteína armazenada nos grânulos alfa, que é mobilizada para a superfície e liberada em suspensão durante a ativação plaquetária, sendo, portanto, um marcador específico. A P-selectina medeia processos inflamatórios interagindo com o ligante (PSGL-1) em leucócitos e células endoteliais (MANDEL *et al.*, 2022).

Para avaliar a capacidade do vírus da dengue (DENV) em ativar plaquetas, foi realizada a produção e purificação tanto da proteína NS1 completa quanto de seus domínios específicos. Utilizando citometria de fluxo, a capacidade de ativação plaquetária pela NS1 foi analisada por meio da identificação dos marcadores de superfície plaquetária. As plaquetas foram incubadas com diferentes concentrações de três domínios da NS1: NS1 β -ladder, NS1 wing e NS1 mutant, por 60 minutos a 37°C. A expressão de marcadores de ativação plaquetária foi avaliada através da fluorescência quando incubadas com a NS1 total do vírus da dengue. Observou-se que a NS1 completa do DENV induziu a expressão da P-selectina e α Ib β III, de forma significativamente maior do que o controle negativo (LARRAGOITI *et al.*, 2021).

A análise indicou que a proteína completa DENV NS1, e todos os domínios da NS1 foram capazes de induzir a expressão do receptor da selectina P e do complexo α Ib β 3 nas superfícies plaquetárias. Os resultados da expressão de marcadores de ativação plaquetária quando as plaquetas foram incubadas com os domínios individuais da NS1, indicaram que o domínio NS1 wing é o que gera maior ativação plaquetária, até mesmo maior do que a NS1 completa. Isso sugere que o domínio da NS1 wing desempenha um papel significativo na ativação plaquetária durante a infecção pelo DENV (LARRAGOITI *et al.*, 2021).

Um estudo proposto por OJHA *et al.* (2017) investigou a relação entre a trombocitopenia e a ativação das plaquetas em pacientes com dengue. O número de plaquetas

foi medido em pacientes com dengue em diferentes dias de febre em comparação com controles saudáveis por citometria de fluxo. A contagem de plaquetas diminuiu de forma significativa no quarto dia de febre, e se recuperou até o valor normal no dia dez. No mesmo período, as plaquetas circulantes apresentavam um estado hiperativo, caracterizado pela expressão máxima de P-selectina, fosfatidilserina (PS), ligação de PAC1 elevada e quantidades elevadas de micropartículas plaquetárias (MPs). Essa pesquisa mostrou uma relação inversa entre a contagem de plaquetas e a expressão dos marcadores de ativação plaquetária, além de uma ativação plaquetária acentuada durante os estágios iniciais da doença (OJHA *et al.*, 2017).

Para manter a integridade endotelial durante a inflamação, é necessário um número suficiente de plaquetas funcionais. Conforme sugerido por Michels *et al.* (2014), a dengue causa defeitos funcionais nas plaquetas, que contribuem para o vazamento plasmático. Essa hipótese surgiu da observação de que petéquias e complicações hemorrágicas ocorrem mesmo quando a contagem de plaquetas está acima do limite para sangramento espontâneo, indicando disfunções plaquetárias (MICHELS *et al.*, 2014).

O estudo de Michels *et al.* (2014) observou que a dengue está associada à ativação plaquetária, evidenciada por uma expressão aumentada do anticorpo PAC-1, do marcador lisossomal CD63 e do marcador de grânulos alfa P-selectina (CD62P). Desenvolveu-se um teste de função plaquetária usando citometria de fluxo com sangue não processado e anticoagulado, adequado para condições de trombocitopenia. Defeitos funcionais das plaquetas foram observados quando estimuladas com o agonista TRAP, apresentando uma expressão máxima reduzida de α IIb β 3 e CD63, e diminuição das interações plaquetas-monócitos e plaquetas-neutrófilos. Demonstrando assim, que a desgranulação intensa pode esgotar as reservas de grânulos das plaquetas, reduzindo os marcadores de ativação. Pacientes com menor expressão desses marcadores tinham maior risco de extravasamento de plasma (MICHELS *et al.*, 2014).

Michels *et al.* (2014) também determinou a presença de marcadores solúveis de ativação plaquetária como medida de degranulação recente das plaquetas e concentrações de serotonina intraplaquetária. A análise revelou que os pacientes com dengue apresentavam concentrações elevadas de marcadores solúveis de ativação plaquetária, indicando uma ativação significativa das plaquetas. Essa ativação está correlacionada com o extravasamento de plasma observado em ultrassonografias. Concentrações aumentadas de serotonina intraplaquetária foram encontradas nos pacientes com dengue. A serotonina é conhecida por sua relação com a permeabilidade vascular, e seu aumento pode estar associado ao extravasamento de plasma (MICHELS *et al.*, 2014).

Pacientes com dengue apresentam concentrações aumentadas de proteínas histona H2A em circulação. Sabe-se que histonas livres se ligam e ativam as plaquetas tanto *in vitro* como *in vivo*. A análise proteômica realizada por Trugilho *et al.* (2017) revelou a presença de histonas exclusivamente em plaquetas de pacientes infectados, confirmada pela detecção com western blot, enquanto as histonas H2B e H3 não foram encontradas em plaquetas de pacientes e controles saudáveis. Assim, foi sugerido que as plaquetas desempenham um papel significativo no sequestro de histonas, especificamente da histona H2A, que são liberadas na circulação (TRUGILHO *et al.*, 2017).

As plaquetas possuem receptores que detectam patógenos e sinais inflamatórios, incluindo receptores do complemento. Este reconhecimento pode levar à ativação das plaquetas pelo complemento e vice-versa (SPETH *et al.*, 2015).

Os anticorpos não neutralizantes formam imunocomplexos com o DENV, ativam o sistema complemento e induzem a opsonização. O contato com os imunocomplexos opsonizados resulta na ativação plaquetária (SPETH *et al.*, 2015). O fator C3 do complemento e a imunoglobulina G (IgG) são reconhecidos por se ligarem à superfície das plaquetas ativadas, promovendo a lise e depuração dessas células (OJHA *et al.*, 2017).

Estudos recentes demonstraram que, após o tratamento com o vírus da dengue tipo 2 (DENV2), há um aumento da ativação plaquetária dependente da ativação do fator C3 do complemento e do IgG à superfície plaquetária. Além disso, a ativação do fator C3 do complemento seguida pela ligação do complexo C5b-9 à superfície das plaquetas está fortemente associada à destruição plaquetária e à trombocitopenia em pacientes infectados pelo DENV2 (OJHA *et al.*, 2017).

As mitocôndrias plaquetárias não apenas desempenham a função de síntese de ATP, mas também demonstraram contribuir para apoptose plaquetária (CHAUDHARY *et al.*, 2022). Pacientes infectados pelo vírus da dengue (DENV) apresentaram sinais clássicos da via intrínseca de apoptose, incluindo a ativação de caspase-9 e caspase-3 (HOTTZ *et al.*, 2013). Além disso, as plaquetas de pacientes com dengue exibiram uma significativa despolarização mitocondrial, medida pela redução da intensidade da fluorescência da tetrametilrodamina etil éster (TMRE). Esta despolarização foi mais intensa nas fases febril e de defervescência da infecção. O estudo também identificou que o receptor DC-SIGN é crucial na ativação de plaquetas induzida pelo DENV. A neutralização do DC-SIGN preveniu a ativação plaquetária e a disfunção mitocondrial induzida pelo DENV (HOTTZ *et al.*, 2013).

4.3 PAPEL DAS MICROPARTÍCULAS E EXOSSOMOS DE PLAQUETAS

A infecção pelo DENV induz a ativação das plaquetas, aumentando a secreção de exossomos e microvesículas. Exossomos derivados de plaquetas promovem a formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs) e estimulam a produção de citocinas por macrófagos e neutrófilos, contribuindo para a inflamação. Micropartículas derivadas de plaquetas transportam IL-1 β , uma citocina associada ao aumento da permeabilidade vascular, representando um mecanismo de patogênese da dengue (KHANAM *et al.*, 2022).

A eliminação de micropartículas (MPs) é uma consequência da morte celular apoptótica e da ativação celular. Níveis baixos de MPs circulantes no sangue contribuem para a manutenção da homeostase, enquanto a produção aumentada de MPs está associada a condições patológicas (PUNYADEE *et al.*, 2015).

As MPs liberadas durante a infecção pelo DENV incluem aquelas derivadas de plaquetas e eritrócitos, que são duas das principais populações de MPs detectadas na circulação. Segundo Punyadee *et al.* (2015), pacientes com dengue hemorrágica (DHF) apresentam quantidades significativamente reduzidas de MPs derivadas de plaquetas (CD41a⁺) em comparação com aqueles com febre da dengue (DF), enquanto a quantidade de MPs derivadas de eritrócitos (CD235⁺) são mais elevadas. As MPs de eritrócitos estão associadas à gravidade da infecção por DENV, mas é a redução das MPs de plaquetas que está diretamente ligada a uma maior tendência hemorrágica. Isso ocorre porque as MPs de plaquetas possuem uma atividade pró-coagulante significativamente maior, essencial para manter a hemostasia (PUNYADEE *et al.*, 2015).

Além das micropartículas, os exossomos derivados de plaquetas (PLT-EXOs) também desempenham um papel importante na patogênese da dengue. O estudo conduzido por Vedpathak *et al.* (2024) investigou o impacto dos exossomos derivados de plaquetas na integridade da monocamada endotelial e na inflamação vascular em pacientes com dengue. O estudo encontrou que os PLT-EXOs de pacientes com dengue, especialmente aqueles com sinais de alerta e dengue grave, apresentaram níveis elevados das proteínas CD63 e CD9. Esses exossomos foram internalizados pelas células endoteliais (HUVECs), resultando na desintegração da monocamada endotelial e na redução da expressão das proteínas de adesão celular Claudin-1, VE-Caderina e CD31 (PECAM-1).

Para avaliar a permeabilidade da monocamada endotelial, foi realizado o ensaio de extravasamento de azul BSA-Evans. Este ensaio demonstrou que os PLT-EXOs de pacientes com dengue resultaram em maior vazamento do complexo azul de Evans-BSA, indicando uma

disfunção endotelial pronunciada. Além disso, os PLT-EXOs estimularam a liberação de marcadores inflamatórios, como CRP, SAA, sVCAM-1 e sICAM-1, tanto nos supernadantes das HUVECs quanto nos soros dos pacientes. Esses achados sugerem que os PLT-EXOs promovem a permeabilidade vascular e a inflamação (VEDPATHAK *et al.*, 2024).

4.4 INTERAÇÃO DAS PLAQUETAS COM CÉLULAS IMUNES

A ativação plaquetária não ocorre apenas em resposta a lesões e processos hemostáticos, mas também desempenha um papel crucial na modulação da resposta do hospedeiro e pode influenciar a sobrevivência do vírus (ASSINGER, 2014). Em resposta à infecção por DENV, as plaquetas ativadas liberam uma variedade de mediadores, incluindo citocinas, quimiocinas e micropartículas, que interagem com células endoteliais e modulam a atividade de outras células imunológicas (HOTTZ *et al.*, 2014). Essas interações podem, em alguns casos, criar um ambiente mais favorável à replicação viral.

As plaquetas ativadas interagem com várias classes de leucócitos, incluindo monócitos, neutrófilos e linfócitos (Figura 4). Na dengue, essas interações são particularmente importantes, pois as plaquetas formam agregados com linfócitos, monócitos e granulócitos, promovendo respostas protetoras e inflamatórias (HOTTZ; BOZZA; BOZZA, 2018).

As plaquetas ativadas formam agregados com monócitos através da interação do receptor de superfície P-selectina, que se liga ao ligante PSGL-1 nos monócitos. Esta interação desencadeia respostas funcionais nos monócitos, promovendo a síntese e secreção de citocinas como IL-1 β , IL-8 e IL-10. Estas citocinas desempenham um papel importante na regulação da resposta imune e na modulação da inflamação (HOTTZ *et al.*, 2014). Em pacientes com dengue, especialmente aqueles com trombocitopenia e sinais de aumento da permeabilidade vascular, foram observados níveis aumentados de agregados plaquetas-monócitos (HOTTZ *et al.*, 2014).

A interação de plaquetas ativadas e apoptóticas com monócitos durante a infecção por DENV envolve a ligação da P-selectina ao PSGL1, o reconhecimento da fosfatidilserina (PhSer) pelos receptores de PhSer e a secreção de quimiocinas dos grânulos α das plaquetas. Esses são os principais mecanismos de imunomodulação de monócitos por plaquetas ativadas, seja após estimulação agonista ou em condições de doença (HOTTZ *et al.*, 2014). Além disso, quando ativas, as plaquetas são fagocitadas pelos monócitos, evidenciando uma associação entre plaquetas ativadas e trombocitopenia (QUIRINO-TEIXEIRA *et al.*, 2021).

As plaquetas ativadas interagem com neutrófilos através de mecanismos semelhantes envolvendo a P-selectina e receptores CLEC5 e TLR2 nos neutrófilos. Esta interação facilita a

formação de redes de neutrófilos chamadas NETs (armadilhas extracelulares de neutrófilos), que podem capturar patógenos, mas também podem contribuir para o dano endotelial e a inflamação excessiva (QUIRINO-TEIXEIRA *et al.*, 2021). Neutrófilos que formaram agregados com plaquetas mostram aumento da atividade fagocítica (ASSINGER, 2014).

As plaquetas interagem diretamente com linfócitos T e B e modulam sua função através da interação direta célula-célula e de mediadores solúveis (ASSINGER, 2014). CXCL4 e CCL5 liberados por plaquetas aumentam a produção de citocinas pró inflamatórias pelos linfócitos T. CXCL4 é um importante mediador na diferenciação de células T, levando a um aumento nos linfócitos T reguladores (ASSINGER, 2014).

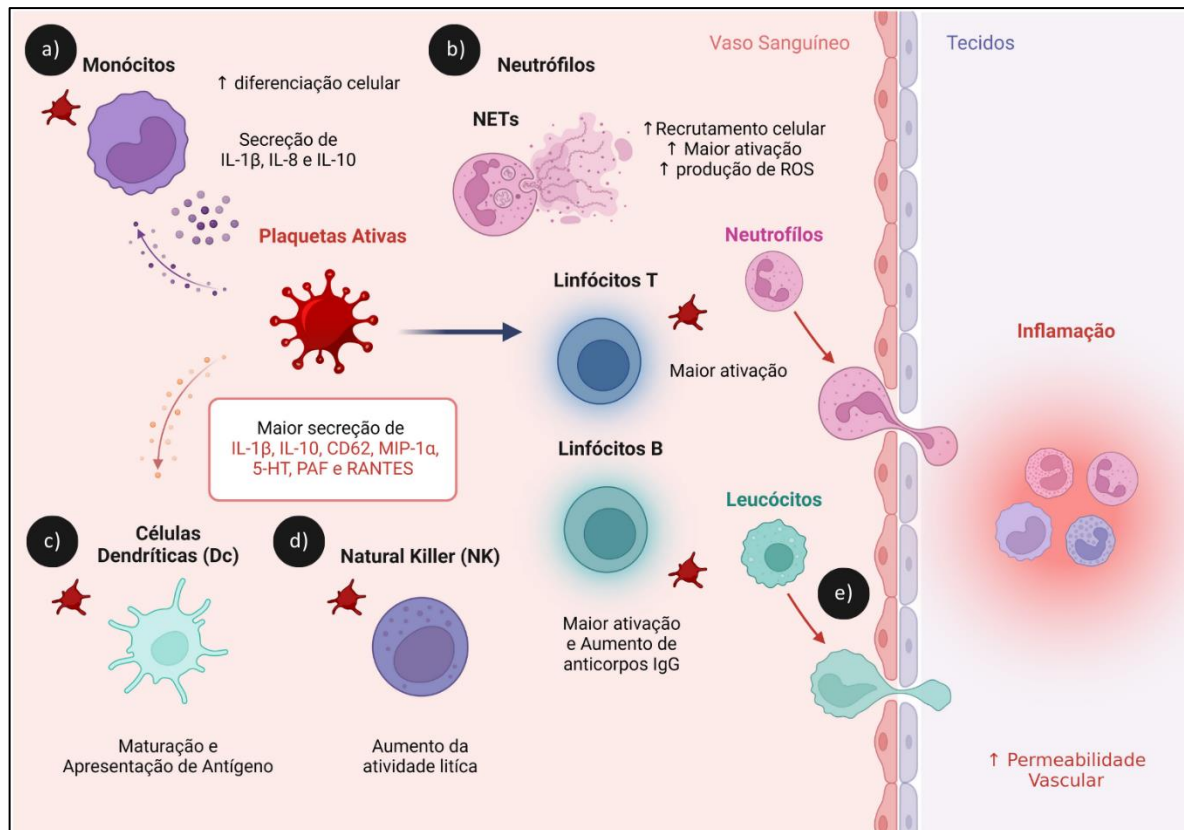
Os anticorpos também podem agravar a doença durante infecções secundárias por DENV através da citotoxicidade celular. O fenômeno ADE resulta na lise direta das células infectadas pelos natural killer (NK). A liberação de grânulos citotóxicos e citocinas pelas células NK contribui para a tempestade de citocinas, e o dano tecidual associado à eliminação da infecção (ST. JOHN; RATHORE, 2019).

A quimiocina CXCL4 é armazenada em grânulos alfa das plaquetas e é liberada durante a ativação plaquetária, sendo produzida também por outras células imunológicas. Nos monócitos, por exemplo, o CXCL4 não só funciona como um mediador quimioatraente, mas também promove a sobrevivência, a produção de TNF- α e a liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS) (SILVA-CARDOSO *et al.*, 2017).

O estudo de Silva-Cardoso *et al.* (2017) demonstrou que a exposição das células dendríticas derivadas de monócitos (moDCs) à CXCL4 durante a diferenciação resulta em células com um fenótipo mais maduro. Estas moDCs exibem maior expressão de marcadores de maturação como CD83, CD86 e MHC classe I.

As plaquetas, através da CXCL4, também desempenham um papel significativo na amplificação da resposta imune adaptativa. As CXCL4-moDCs são capazes de induzir uma proliferação mais robusta de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ autólogas, bem como uma maior produção de citocinas como IFN- γ e IL-4. Essa ativação ocorre de forma antígeno-independente, sugerindo que a CXCL4 pode criar um ambiente imune mais reativo e potencialmente inflamatório (SILVA-CARDOSO *et al.*, 2017).

Figura 5 – Modulação das plaquetas nas células imunológicas.



As plaquetas ativadas secretam uma variedade de citocinas e mediadores inflamatórios, incluindo IL-1 β , IL-10, CD62, MIP-1 α , 5-HT, PAF e RANTES, que promovem a inflamação e o recrutamento celular. **a)** As plaquetas ativadas promovem a diferenciação dos monócitos, que, por sua vez, secretam citocinas como IL-1 β , IL-8 e IL-10. **b)** Neutrófilos respondem à ativação plaquetária com a liberação de armadilhas extracelulares (NETs), aumento do recrutamento celular, maior ativação e produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). **c)** As plaquetas também influenciam as células dendríticas, promovendo sua maturação e apresentação de antígenos. **d)** As células Natural Killer (NK) aumentam sua atividade lítica em resposta às plaquetas ativadas. **e)** Os linfócitos T e B são ativados, com os linfócitos B aumentando a produção de anticorpos IgG. Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024.

4.5 MEDIADORES ATIVADORES DE PLAQUETAS

Há diversos mediadores que contribuem para a ativação plaquetária na dengue. O fator ativador de plaquetas (PAF) é um mediador lipídico inflamatório altamente ativo, produzido por mastócitos, monócitos e células endoteliais (SRISAWAT *et al.*, 2023). Embora não seja um marcador específico para ativação plaquetária, o estudo realizado por JEEWANDARA *et al.* (2015) demonstraram que os níveis de PAF são significativamente mais altos em pacientes com dengue, especialmente naqueles com DHF.

Várias vias podem levar à ativação das plaquetas, mas o fator ativador de plaquetas (PAF) parece ter um papel significativo. A ligação do PAF ao receptor do fator ativador de plaquetas (PAFR) ativa várias cascatas de sinalização intracelular. Foi observado que o PAF é

capaz de ativar a transcrição do fator de transcrição NF- κ B, resultando na expressão aumentada de citocinas inflamatórias, como o TNF α e o IL-1 β (JEEWANDARA *et al.*, 2015).

Na pesquisa *in vitro*, observou-se que o PAF presente no soro de pacientes com dengue está associado à diminuição da expressão de proteínas de junção estreita (ZO-1) e à redução da resistência transendotelial (TEER) em células endoteliais humanas. Essas proteínas são fundamentais para manter a integridade da barreira endotelial. Para investigar esse fenômeno, foram realizados experimentos utilizando células HUVECs, expostas a diferentes concentrações de PAF (100 ng/ml, 200 ng/ml e 500 ng/ml). Os resultados mostraram que o PAF reduz a expressão da proteína ZO-1 e este efeito foi significativamente inibido pelo uso de um bloqueador do receptor de PAF (PAFR). Além disso, as células HUVEC incubadas com soro de pacientes com dengue apresentavam morfologia alterada, redução na expressão de ZO-1 e alargamento das junções comunicantes (JEEWANDARA *et al.*, 2015).

Um ensaio clínico de fase 2 randomizado, duplo-cego e controlado por placebo foi realizado em pacientes com dengue aguda no Sri Lanka. Aqueles que receberam 40 mg de Rupatadina oral, um bloqueador do PAFR, durante cinco dias, apresentaram uma menor probabilidade de desenvolver FHD (9,7%) em comparação com o placebo (17,5 %). Embora esta diferença não tenha sido estatisticamente significativa, a rupatadina também reduziu os vômitos persistentes, as dores de cabeça e a sensibilidade hepática (MALAVIGE *et al.*, 2022).

O tratamento também resultou em uma menor probabilidade de desenvolver uma redução na contagem de plaquetas inferiores a 50.000 células/mm³ (P = 0,01) e uma redução significativa na duração da doença (P = 0,0002). Embora a rupatadina tenha mostrado potencial para reduzir a proporção de pacientes com dengue que desenvolvem FHD, é improvável que seja eficaz isoladamente. Como anti-histamínico e bloqueador do PAFR, a rupatadina provavelmente não previne o vazamento vascular causado por outros mediadores, como IL-1 β , TNF- α e o antígeno NS1 da dengue (MALAVIGE *et al.*, 2022).

Além disso, a rupatadina por si só não resultou em uma redução significativa das manifestações hemorrágicas (MALAVIGE *et al.*, 2022). Isso sugere que, além da contagem de plaquetas, outros fatores contribuem significativamente para o risco de sangramento em pacientes com dengue. Portanto, abordagens terapêuticas que visam exclusivamente aumentar a contagem de plaquetas podem não ser suficientes. As concentrações de rupatadina utilizadas em estudos *in vitro* e em camundongos foram maiores do que as usadas no ensaio clínico, o que pode explicar a eficácia limitada observada. Nesse sentido, mais estudos são necessários para confirmar esses achados e determinar a eficácia da rupatadina em diferentes condições e doses (MALAVIGE *et al.*, 2022).

A histona H2A livre circulante no plasma também mostrou capacidade de ativar plaquetas. Plaquetas tratadas com histona H2A recombinante apresentaram aumento na translocação de P-selectina para a superfície e na secreção de PF4/CXCL4, uma resposta que foi inibida por quelantes de cálcio e bloqueadores do receptor TLR4, sugerindo a participação desses mecanismos na ativação plaquetária. Adicionalmente, o bloqueio da histona H2A no plasma de pacientes com dengue preveniu a ativação plaquetária, reforçando o papel das histonas na modulação da resposta imunológica durante a infecção (TRUGILHO *et al.*, 2017).

As maiores quantidades de serotonina no sangue são armazenadas em grânulos densos em plaquetas, que também são liberados após a ativação plaquetária (ASSINGER, 2014). De acordo com Masri *et al.* (2019) um dos mecanismos de trombocitopenia induzido pelo vírus da dengue envolve a ativação das plaquetas mediada pela serotonina periférica liberada por células mastocitárias, seguida pela fagocitose dessas plaquetas no baço. A serotonina é uma das diversas moléculas capazes de ativar as plaquetas, e os mastócitos são uma das principais fontes periféricas de serotonina (MASRI *et al.*, 2019).

Para avaliar a importância dos mastócitos na presença de trombocitopenia foram utilizados dois modelos de camundongos: camundongos selvagens (WT) e camundongos deficientes em mastócitos (SASH). Ambos os grupos foram infectados com DENV. Observou-se que os camundongos WT desenvolveram trombocitopenia, enquanto os camundongos SASH não mostraram uma redução significativa no número de plaquetas (MASRI *et al.*, 2019). Assim, foi observado que a serotonina derivada dos mastócitos causa trombocitopenia, apesar de que também foi esclarecido que a serotonina exógena por si só também tem o mesmo efeito.

Finalmente, para confirmar que os achados em camundongos se aplicam a humanos, os pesquisadores realizaram experimentos *in vitro* com plaquetas humanas. Os resultados mostraram que a serotonina aumentou a ativação das plaquetas humanas em resposta ao DENV. Ao utilizar antagonistas específicos dos receptores 5HT2A, como a ketanserina e o sarpogrelato, em camundongos infectados com DENV reverteu a trombocitopenia e reduziu a ativação das plaquetas nos camundongos. Assim, tanto a deficiência de mastócitos em camundongos quanto a inibição farmacológica dos receptores 5HT2A reverteu a trombocitopenia (MASRI *et al.*, 2019).

4.6 PRODUÇÃO DE CITOCINAS E MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

De acordo com Hottz *et al.* (2014), as plaquetas ao se agregarem às células endoteliais e leucócitos, desempenham um papel crucial na resposta inflamatória. Os agregados plaqueta-monócito foram significativamente maiores em pacientes com dengue trombocitopênicos em comparação com pacientes não trombocitopênicos. Em particular, a exposição dos monócitos a plaquetas ativadas induz a secreção de citocinas, incluindo IL-1 β , IL-8, IL-10 e MCP-1, que são conhecidas por aumentar a permeabilidade endotelial (HOTTZ *et al.*, 2014). A IL-1 β é uma importante citocina pró-inflamatória aumentada durante a infecção por dengue. Essa citocina tem sido associada ao aumento da permeabilidade endotelial, à trombose e à hemostasia desregulada na dengue. A IL-1 β é sintetizada como uma proteína precursora maior que é clivada na citocina ativa por inflamassomas, que controlam a atividade da caspase-1 no sistema imunológico inato (HOTTZ *et al.*, 2013).

Um estudo adicional proposto por Hottz *et al.* (2014), demonstrou que os monócitos respondem à presença de plaquetas apoptóticas em agregados com monócitos e plaquetas, secretando IL-10. Os pesquisadores realizaram experimentos nos quais estimularam as plaquetas com trombina e convulxina, substâncias conhecidas por ativar as plaquetas e induzir apoptose. Observou-se que essa combinação resultou na expressão de P-selectina, exposição de fosfatidilserina e perda de potencial de membrana mitocondrial, todos marcadores de apoptose. Curiosamente, quando os monócitos foram expostos apenas a plaquetas ativadas por trombina, a secreção de IL-8 foi observada, mas não de IL-10. No entanto, quando expostos a plaquetas tanto ativadas quanto apoptóticas, os monócitos secretaram tanto IL-8 quanto IL-10, indicando uma resposta diferenciada dependendo do estado das plaquetas (HOTTZ *et al.*, 2014).

Um estudo avaliou os diferentes tipos de citocinas e quimiocinas em pacientes com dengue, apresentavam valores plasmáticos elevados das citocinas TNF- α , IL-6, IL-10 e IL-18 e das quimiocinas CXCL8, CCL2 e CXCL10 em comparação com controles saudáveis. Nesse estudo, os pacientes com dengue e trombocitopenia apresentaram valores significativamente mais elevados de IL-10, o que corrobora com a hipótese de formação de agregados monócitos-plaquetas como causa de trombocitopenia e liberação de citocinas (SOLÓRZANO *et al.*, 2021).

O estudo conduzido por Trugilho *et al.*, 2017 investigou a expressão de quimiocinas, especificamente o fator plaquetário 4 (PF4) e RANTES, em pacientes com dengue em comparação com indivíduos saudáveis. O PF4 é uma quimiocina expressa exclusivamente por plaquetas e megacariócitos quando ativos. Descobriu-se que, embora as plaquetas dos pacientes com dengue apresentassem menor armazenamento de PF4, quando ativadas durante a infecção,

liberavam mais dessa quimiocina do que as plaquetas de indivíduos saudáveis. Isso indica um possível esgotamento de seus próprios estoques internos desse fator. Além disso, os valores de PF4 no sangue dos pacientes com dengue aumentaram, corroborando com a ideia de uma liberação aumentada por plaquetas ativadas. Resultados semelhantes foram observados para a quimiocina RANTES.

Pereira *et al.* (2020) investiga a presença de linfócitos T multifuncionais que expressam IFN γ , IL10 e TNF em diferentes formas clínicas da dengue. A pesquisa identifica que pacientes com dengue leve possuem frequências mais altas de linfócitos T multifuncionais, especificamente CD4⁺ e CD8⁺, que produzem combinações de IFN γ , IL10 e TNF. A presença dessas células está associada a formas leves de dengue, sugerindo que elas desempenham um papel protetor na evolução clínica da infecção. Também ocorreu uma correlação positiva dessas células com a quantidade de plaquetas indicando uma função protetora (PEREIRA *et al.*, 2020).

O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória crucial que contribui para a permeabilidade vascular aumentada e hemorragias durante infecções graves por DENV. Houve uma correlação negativa significativa entre a concentração de TNF- α e a contagem de plaquetas. Especificamente, um aumento de uma unidade em TNF- α foi associado a uma diminuição de 160 unidades na contagem de plaquetas (MEENA *et al.*, 2020). Isso sugere que TNF- α desempenha um papel importante na trombocitopenia associada à dengue. Análise das citocinas mostra que a resposta imune em infecções por dengue é complexa e envolve tanto citocinas pró-inflamatórias quanto anti-inflamatórias. A IL-2 e IL-4 desempenham papéis protetores e regulatórios, enquanto a IL-10 pode aumentar a patogênese da dengue (MEENA *et al.*, 2020).

Avanços recentes na pesquisa buscaram selecionar 10 biomarcadores das vias vascular, imunológica e inflamatória na infecção por dengue. Para isso, foram analisadas amostras e dados clínicos de um grande estudo observacional multicêntrico conduzido em quatro países (Vietnã, Camboja, Malásia e El Salvador). No total, 281 casos de dengue moderada a grave e 556 controles com dengue não complicada foram incluídos na análise. Os biomarcadores investigados foram VCAM-1, SDC-1, Ang-2, IL-8, IP-10, IL-1RA, sCD163, sTREM-1, ferritina e CRP (VUONG *et al.*, 2021).

A análise revelou que a combinação de IL-1RA, Ang-2, IL-8, ferritina, IP-10 e SDC-1 está associada à dengue moderada à grave em crianças. Em adultos, a combinação de SDC-1, IL-8, ferritina, sTREM-1, IL-1RA, IP-10 e sCD163 mostrou-se associada à dengue moderada à grave. Esses achados são significativos, e contribuem para o desenvolvimento de painéis de biomarcadores para uso clínico, facilitando a triagem e o manejo precoce de pacientes em risco de complicações graves (VUONG *et al.*, 2021).

5 CONCLUSÃO

Os principais achados desta revisão indicam que as plaquetas desempenham um papel importante na resposta inflamatória durante a infecção por dengue. A ativação plaquetária é mediada por vários agonistas e resulta na liberação de mediadores inflamatórios, como citocinas e quimiocinas, que modulam a interação com outras células imunológicas. Os estudos destacaram a importância do inflamassoma NLRP3 e da secreção de IL-1 β na resposta inflamatória das plaquetas, contribuindo para o aumento da permeabilidade vascular.

A ativação plaquetária resulta na liberação dos constituintes granulares. Quimiocinas e citocinas derivadas de plaquetas, como CXCL4, CCL5, IL-1 β e TNF- α , regulam funções inflamatórias, incluindo migração de leucócitos, fagocitose e geração de espécies reativas de oxigênio (ROS). Esses mediadores promovem a ativação de células imunes e amplificam a resposta inflamatória. Além disso, as interações das plaquetas com células imunológicas, como monócitos e neutrófilos, através de moléculas como P-selectina e PSGL-1, intensificam a resposta inflamatória, aumentando a permeabilidade endotelial e desregulando a hemostasia, características comuns na dengue grave.

As plaquetas de pacientes com dengue apresentam sinais de ativação, disfunção mitocondrial e ativação da cascata de caspases de apoptose resultando em trombocitopenia. Além disso, defeitos na função plaquetária podem prejudicar adesão e agregação plaquetária no endotélio inflamado, promovendo sangramento inflamatório.

A análise de marcadores específicos de ativação plaquetária, como P-selectina, CD63, α IIb β 3, e as mudanças na funcionalidade plaquetária em resposta à infecção, revelou que uma ativação prolongada das plaquetas resulta em um estado de exaustão. Isso sugere que as plaquetas ao passar por um estado de ativação máxima e esgotar seus grânulos de reserva, limita sua capacidade de formar novos agregados e liberar mediadores inflamatórios adicionais.

Por fim, a ligação do complemento e a presença de histonas livres contribuem para a ativação e depuração das plaquetas durante a infecção por dengue. O complemento promove a destruição e remoção das plaquetas da circulação, enquanto as histonas livres perpetuam um ciclo de ativação e exaustão. Todos estes processos que contribuem para a ativação plaquetária resultam num aumento do consumo e remoção de plaquetas e conduzem frequentemente à trombocitopenia, que é frequentemente observada durante a infecção viral.

REFERÊNCIAS

- ADANE, T.; GETAWA, S. Coagulation abnormalities in Dengue fever infection: A systematic review and meta-analysis. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 8, 18 ago. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34407078/>. Acesso em: 27 abril 2024.
- ALVAREZ, D.E et al. Role of RNA structures present at the 3'UTR of dengue virus on translation, RNA synthesis, and viral replication. **Virologia**, v. 339, n. 2, pág. 200–212, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.06.009> Acesso em: 05 maio 2024.
- ASSINGER, A. Platelets and infection: an emerging role of platelets in viral infection. **Frontiers in immunology**, v. 5, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00649>. Acesso em: 09 junho 2024.
- AZEREDO, E. L.; MONTEIRO, R. Q.; PINTO, L. M. Thrombocytopenia in dengue: Interrelationship between virus and the imbalance between coagulation and fibrinolysis and inflammatory mediators. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, p. 1–16, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2015/313842>. Acesso em: 01 maio 2024.
- BRASIL. **Ministério da Saúde**. Dengue. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dengue>. Acesso em: 23 outubro 2023.
- BRASIL. **Ministério da Saúde**. Dengue: diagnóstico e manejo clínico: adulto e criança. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/dengue/dengue-diagnostico-e-manejo-clinico-adulto-e-crianca>. Acesso em: 24 maio 2024.
- CÂMARA, F. P. et al. Estudo retrospectivo (histórico) da dengue no Brasil: características regionais e dinâmicas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 2, p. 192-196, abr. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822007000200009>. Acesso em: 23 outubro 2023.
- CHAUDHARY, P. K.; KIM, S.; KIM, S. An insight into recent advances on platelet function in health and disease. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 11, p. 6022, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms23116022>. Acesso em: 22 maio 2023.
- CHEN, Y. et al. Role of platelet biomarkers in inflammatory response. **Biomarker Research**, v. 8, n. 1, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12934-020-00207-2>. Acesso em: 05 maio 2024.
- CLARK, S. R. et al. Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. **Nature medicine**, v. 13, n. 4, p. 463–469, 2007. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nm1565>. Acesso em: 30 maio 2024.
- COSTA, V. V. et al. Inflammatory and innate immune responses in dengue infection. **The American journal of pathology**, v. 182, n. 6, p. 1950–1961, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.02.027>. Acesso em: 28 outubro 2023.

DELVAEYE, M.; CONWAY, E. M. Coagulation and innate immune responses: can we view them separately? **Blood**, v. 114, n. 12, p. 2367–2374, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1182/blood-2009-05-199208>. Acesso em: 07 Junho 2024.

DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R.; ZUBEN, A. P. B. V. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, n. 0, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1518-8787.2017051006889>.

FERNANDES-SANTOS, C.; AZEREDO, E. L. DE. Innate immune response to dengue virus: Toll-like receptors and antiviral response. **Viruses**, v. 14, n. 5, p. 992, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390%2Fv14050992>. Acesso: 10 maio 2024.

FLAUMENHAFT, R.; SHARDA, A. Platelet Secretion. **Platelets**, n. 4, 2019. p. 349–370. Disponível: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813456-6.00019-9>. Acesso: 01 junho 2024.

GUABIRABA, R.; RYFFEL, B. Dengue virus infection: current concepts in immune mechanisms and lessons from murine models. **Immunology**, v. 141, n. 2, p. 143–156, 9 jan 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/imm.12188>. Acesso em: 27 abril 2024.

GUBLER, D. J. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 3, p. 480–496, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/cmr.11.3.480>. Acesso em: 29 outubro 2023

GUZMAN, M. G. et al. Dengue infection. **Nature reviews. Disease primers**, v. 2, n. 1, p. 1 - 25, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.55> . Acesso em: 29 outubro 2023.

GUZMAN, M. G. et al. Dengue: a continuing global threat. **Nature Reviews Microbiology**. v. 8, n S12, p. S7–S16, 1 dez. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2460>. Acesso em: 29 outubro 2023.

HALSTEAD, S. B. Dengue. **The Lancet**, v. 370, n. 9599, p. 1644–1652, 2007. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(07\)61687-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(07)61687-0). Acesso em: 26 outubro 2023.

HALSTEAD, S. B. Neutralization and Antibody-Dependent Enhancement of Dengue Viruses. **Advances in Virus Research**, p. 421-467, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0065-3527\(03\)60011-4](https://doi.org/10.1016/s0065-3527(03)60011-4). Acesso em: 29 outubro 2023.

HAPSARI PUTRI, I. et al. Thrombocytopenia and platelet dysfunction in acute tropical infectious diseases. **Seminars in thrombosis and hemostasis**, v. 44, n. 07, p. 683–690, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-0038-1657778>. Acesso em: 01 maio 2024.

HOTTZ, E. D. et al. Platelet Activation and Apoptosis Modulate Monocyte Inflammatory Responses in Dengue. **The journal of immunology**, v. 193, n. 4, p. 1864–1872, 15 ago. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1400091>. Acesso em: 14 novembro 2023.

HOTTZ, E. D. et al. Platelets mediate increased endothelium permeability in dengue through NLRP3-inflammasome activation. **Blood**, v. 122, n. 20, p. 3405–3414, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1182%2Fblood-2013-05-504449>. Acesso: 05 maio 2024.

HOTTZ, E. D.; BOZZA, F. A.; BOZZA, P. T. Platelets in immune response to virus and immunopathology of viral infections. **Frontiers in medicine**, v. 5, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00121>. Acesso: 01 junho 2024.

HUANG, A. T. et al. Beneath the surface: Amino acid variation underlying two decades of dengue virus antigenic dynamics in Bangkok, Thailand. **PLoS pathogens**, v. 18, n. 5, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010500>. Acesso em: 02 maio 2024.

JEEWANDARA, C. et al. Platelet Activating Factor Contributes to Vascular Leak in Acute Dengue Infection. **PLoS doenças tropicais negligenciadas**, v. 2, pág. 0003459, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003459>. Acesso: 01 abril 2024.

JOHN, D. V.; LIN, Y.-S.; PERNG, G. C. Biomarkers of severe dengue disease – a review. **Journal of biomedical science**, v. 22, n. 1, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186%2Fs12929-015-0191-6>. Acesso em: 30 maio 2024.

KING, C. A.; WEGMAN, A. D.; ENDY, T. P. Mobilization and activation of the innate immune response to dengue virus. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 10, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.574417>. Acesso em: 10 junho 2024.

KURANE, I. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. **Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases**, v. 30, n. 5-6, p. 329–340, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2007.05.010>. Acesso: 29 outubro 2023.

LARRAGOITI, N. et al. Platelet activation and aggregation response to dengue virus nonstructural protein 1 and domains. **Journal of thrombosis and haemostasis**, v. 19, n. 10, p. 2572–2582, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jth.15431>. Acesso em: 01 abril 2024.

LINDENBACH, B. D.; RICE, C. M. Molecular biology of flaviviruses. **Advances in Virus Research**, vol 59. Elsevier, 2003. p. 23–61. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0065-3527\(03\)59002-9](https://doi.org/10.1016/s0065-3527(03)59002-9). Acesso em: 06 junho 2024.

LUPI, O.; CARNEIRO, C. G.; COELHO, I. C. B. Manifestações mucocutâneas da dengue. **ABD - Anais brasileiros de dermatologia**, v. 82, n. 4, p. 291–305, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0365-05962007000400002>. Acesso em: 29 outubro 2023.

MALAVIGE, G. N. et al. Efficacy of rupatadine in reducing the incidence of dengue haemorrhagic fever in patients with acute dengue: A randomised, double blind, placebo-controlled trial. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 16, n. 6, p. e0010123, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010123>. Acesso em: 01 abril 2024.

MALAVIGE, G. N. et al. Suppression of virus specific immune responses by IL-10 in acute dengue infection. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 9, p. e2409, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002409>. Acesso: 11 maio 2024.

MALAVIGE, G.N; OGG, GS. Pathogenesis of vascular leak in dengue virus infection. **Immunology**, v. 151, n. 3, pág. 261–269, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/imm.12748>. Acesso em: 20 abril 2024.

MANDEL, J. et al. Beyond hemostasis: Platelet innate immune interactions and thromboinflammation. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 7, p. 3868, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms23073868>. Acesso em: 02 junho 2024.

MASRI, M. F. B. et al. Peripheral serotonin causes dengue virus–induced thrombocytopenia through 5HT2 receptors. **Blood**, v. 133, n. 21, p. 2325–2337, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1182/blood-2018-08-869156>. Acesso em: 01 abril 2024.

MEENA, A. A. et al. Increase of plasma TNF- α is associated with decreased levels of blood platelets in clinical dengue infection. **Viral immunology**, v. 33, n. 1, p. 54–60, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/vim.2019.0100>. Acesso: 09 junho 2024.

MICHELS, M. et al. Platelet function alterations in dengue are associated with plasma leakage, **Thrombosis and haemostasis**, v. 112, n. 08, p. 352–362, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1160/th14-01-0056>. Acesso em: 05 maio 2024.

MULLER, D. A.; ALEXANDRA; YOUNG, P. R. Clinical and Laboratory Diagnosis of Dengue Virus Infection. **The journal of infectious diseases**, v. 215, p. S89–S95, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw649>. Acesso em: 25 maio 2024.

MURUGESAN, A.; MANOHARAN, M. Dengue Virus. Emerging and Reemerging Viral Pathogens. **Elsevier**, p. 281-359, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016%2FB978-0-12-819400-3.00016-8>. Acesso em: 31 Maio 2024.

MUSTAFA, M. S. et al. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. **Medical Journal, Armed Forces India**, v. 71, n. 1, p. 67-70, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016%2Fj.mjafi.2014.09.011>. Acesso em: 23 outubro 2023.

NANAWARE, N. et al. Dengue virus infection: A tale of viral exploitations and host responses. **Viruses**, v. 13, n. 10, p. 1967, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8541669/>. Acesso em: 26 outubro 2023.

OJHA, A. et al. Platelet activation determines the severity of thrombocytopenia in dengue infection. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep41697>. Acesso em: 01 abril 2024.

OLIVEIRA, D. B. **Estudo das alterações morfológicas e funcionais das plaquetas na infecção pelo vírus dengue**. 2012. 124 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/6910>. Acesso em: 04 maio 2024.

PATRO, A. R. K. et al. Cytokine signature associated with disease severity in dengue. **Viruses**, v. 11, n. 1, p. 34, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v11010034>.

PEREIRA, M. H. et al. T-cells producing multiple combinations of IFN γ , TNF and IL10 are associated with mild forms of dengue infection. **Immunology**, v. 160, n. 1, p. 90–102, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/imm.13185>. Acesso em: 11 Junho 2024.

PORTILHO, M. M.; LIMA, N. V. S. C.; CAIRES, P. S. M. Alterações hematológicas na dengue grave – uma revisão sistemática. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 54, n. 1, p. 62–67, 2022. Disponível em: <https://www.rbac.org.br/artigos/alteracoes-hematologicas-na-dengue-grave-uma-revisao-sistematica/>. Acesso em: 27 abril 2024.

PÓVOA, T. F. et al. Peripheral organs of dengue fatal cases present strong pro-inflammatory response with participation of IFN-gamma-, TNF-alpha- and RANTES-producing cells. **PLOS ONE**, v. 11, n. 12, p. 0168973, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168973>. Acesso: 10 Maio 2024.

PUNYADEE, N. et al. Microparticles provide a novel biomarker to predict severe clinical outcomes of dengue virus infection. **Journal of virology**, v. 89, n. 3, p. 1587–1607, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jvi.02207-14>. Acesso em: 10 maio 2024.

QUIRINO-TEIXEIRA, A. C. et al. Platelets in dengue infection: more than a numbers game. **Platelets**, v. 33, n. 2, p. 176-183, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09537104.2021.1921722>. Acesso em: 11 novembro 2023.

RAJAPAKSE, S. Dengue shock. **Journal of emergencies, trauma, and shock**, v. 4, n. 1, p.120, Jan. 2011. Disponível: <https://doi.org/10.4103/0974-2700.76835>. Acesso: 29 out. 2023.

RATHORE, S.; FAROUK, Farouk S.; ST, Ashley L. Risk factors and biomarkers of severe dengue. **Current Opinion in Virology**, v. 43, p. 1-8, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32688269/>. Acesso em: 29 outubro 2023.

RIVERA, J. et al. Platelet receptors and signaling in the dynamics of thrombus formation. **Haematologica**, v. 94, n. 5, p. 700–711, 2009. Disponível: <https://doi.org/10.3324/haematol.2008.003178>. Acesso em: 05 maio 2024.

ROTHMAN, A. L. Immunity to dengue virus: a tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms. **Nature reviews. Immunology**, v. 11, n. 8, p. 532–543, 2011. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nri3014>. Acesso em: 29 outubro 2023.

SCHERLINGER, M. et al. The role of platelets in immune-mediated inflammatory diseases. **Nature reviews. Immunology**, v. 23, n. 8, p. 495–510, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41577-023-00834-4>. Acesso em: 25 outubro 2023.

SERUFO, J. C. et al. Dengue: uma nova abordagem. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n. 5, p. 465–476, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-8682200000500008>. Acesso em: 25 outubro 2023.

SILVA, M.B.A et al. Perfil das arboviroses Dengue, Chikungunya e Zika no Distrito Sanitário III do município de Recife (Brasil). **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 9, n. 1, 2020. Disponível em: <https://revistabrasileirademeioambiente.com/index.php/RVBMA/article/view/607>. Acesso em: 1 abril 2024.

SILVA-CARDOSO, S. C. et al. CXCL4 exposure potentiates TLR-driven polarization of human monocyte-derived dendritic cells and increases stimulation of T cells. **The journal of immunology**, v. 199, n. 1, p. 253-262, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1602020>. Acesso em: 10 junho 2024.

SIMMONS, C. P. et al. Maternal antibody and viral factors in the pathogenesis of dengue virus in infants. **The journal of infectious diseases**, v. 196, n. 3, p. 416–424, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/519170>. Acesso em: 29 outubro 2023.

SINGH, A. et al. Role of platelet cytokines in dengue virus infection. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 10, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.561366>. Acesso em: 05 maio 2024.

SINGH, A. et al. **Role of Platelet Cytokines in Dengue Virus Infection**. *Fronteiras em microbiologia celular e de infecção*, v. 10, 2020. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.561366>.

SINGHI, S.; KISSOON, N.; BANSAL, A. Dengue e dengue hemorrágico: aspectos do manejo na unidade de terapia intensiva. **Jornal de Pediatria**, v. 83, n. 2, S22–S35, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0021-75572007000300004>. Acesso em: 29 outubro 2023.

SOLÓRZANO, V. E. F. et al. Different profiles of cytokines, chemokines and coagulation mediators associated with severity in Brazilian patients infected with dengue virus. **Viruses**, v. 13, n. 9, p. 1789, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v13091789>.

SPETH, C. et al. Complement and platelets: Mutual interference in the immune network. **Molecular immunology**, v. 67, n. 1, p. 108–118, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2015.03.244>. Acesso em: 09 junho 2024.

SRICHAIKUL, T.; NIMMANNITYA, S. Haematology in dengue and dengue haemorrhagic fever. **Best Practice & Research. Clinical haematology**, v. 13, n. 2, p. 261–276, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1053/beha.2000.0073>. Acesso em: 25 outubro 2023.

SRIKIATKHACHORN, A; MATHEW, A.; ROTHMAN, A. L. Immune-mediated cytokine storm and its role in severe dengue. **Seminars in immunopathology**, v. 39, n. 5, p. 563–574, 11 abr. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0625-1>.

SRISAWAT, N. et al. Proceedings of the 5th Asia Dengue Summit. **Tropical medicine and infectious disease**, v. 8, n. 4, p. 231, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/tropicalmed8040231>. Acesso: 01 abr. 2024.

ST. JOHN, A. L.; RATHORE, A. P. S. Adaptive immune responses to primary and secondary dengue virus infections. **Nature reviews. Immunology**, v. 19, n. 4, p. 218–230, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0123-x>. Acesso: 10 maio 2024.

STOREY, R.; THOMAS, M. The role of platelets in inflammation. **Thrombosis and haemostasis**, v. 114, n. 09, p. 449–458, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1160/th14-12-1067>. Acesso em: 05 maio 2024.

TRUGILHO, M. R. et al. Platelet proteome reveals novel pathways of platelet activation and platelet-mediated immunoregulation in dengue. **PLoS pathogens**, v. 13, n. 5, p. e1006385, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006385>. Acesso: 04 maio 2024.

VEDPATHAK, S. et al. Platelet derived exosomes disrupt endothelial cell monolayer integrity and enhance vascular inflammation in dengue patients. **Frontiers in immunology**, v. 14, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1285162>. Acesso em: 10 junho 2024.

VIEIRA-DE-ABREU, A. et al. Platelets: versatile effector cells in hemostasis, inflammation, and the immune continuum. **Seminars in immunopathology**, v. 34, n. 1, p. 5–30, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00281-011-0286-4>. Acesso em: 01 maio 2024.

VUONG, N. L. et al. Combination of inflammatory and vascular markers in the febrile phase of dengue is associated with more severe outcomes. **eLife**, v. 10, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.7554/elife.67460>. Acesso: 11 de junho de 2024.

WAGGONER, J. J. et al. Antibody-dependent enhancement of severe disease is mediated by serum viral load in pediatric dengue virus infections. **The journal of infectious diseases**, v. 221, n. 11, p. 1846–1854, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz618>. Acesso: 10 maio de 2024.

WHITE JG. Platelet structure. **Platelets**. Second ed. Burlington: Academic Press. 2007. p. 45-73. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-012369367-9/50765-5>. Acesso em: 01 maio 2024.