

## บทความพิเศษ

# การเปลี่ยนแปลงทางเลือดในโรคไข้เลือดออก

ถนอมศรี ศรีชัยกุล

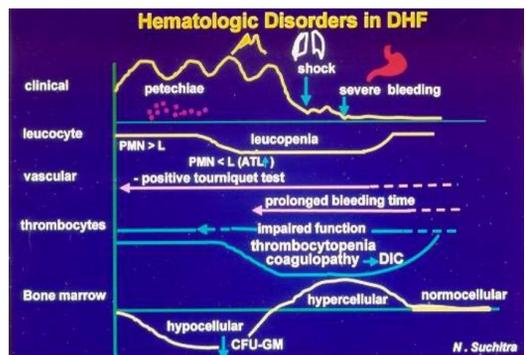
โรงพยาบาลวิชัยยุทธ

โรคไข้เลือดออก หรือ Dengue hemorrhagic fever (DHF) นั้นเริ่มมีการระบาดครั้งแรกในประเทศไทย ประมาณ ปี ค.ศ. 1950s อาการสำคัญที่นำผู้ป่วยมาพบแพทย์คือ อาการไข้สูงอยู่ประมาณ 3-4 วัน ต่อมาจะมีอาการ shock และตามมาด้วยอาการเลือดออก ในรายที่รุนแรงจะมีเลือดออกจากทางเดินอาหาร จากสมอง และจะถึงแก่กรรมอย่างรวดเร็วภายใน 24 ชั่วโมง โรคนี้พบระบาดมากในเด็ก แต่ในระยะหลังนี้พบในผู้ใหญ่มากขึ้น ในระยะแรกที่พบการระบาดในประเทศไทย ยังไม่ทราบว่าเกิดจากสาเหตุอะไรจึงได้รับชื่อว่า Thai hemorrhagic fever ส่วนประเทศอื่นๆ ทาง Southeast Asia ก็พบโรคนี้ระบาดเช่นเดียวกัน เช่น ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย เกาหลี และไต้หวัน และได้รับชื่อตามประเทศนั้น เช่น Philippine hemorrhagic fever เป็นต้น ต่อมาเมื่อผู้ศึกษาจึงพบว่าโรคนี้เกิดจากเชื้อไวรัส dengue และมี 4 ชนิดคือ Dengue 1 (D<sub>1</sub>), D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub> หลังจากนั้นจึงได้ตกลงกันให้ชื่อว่าเป็น Dengue hemorrhagic fever

เนื่องจากอาการที่เกิดขึ้นและนำผู้ป่วยมาพบแพทย์นั้นมี 2 เรื่องใหญ่ๆ คือ ไข้ และมีเลือดออกตามผิวหนัง ในรายที่รุนแรง มี shock และ เลือดออกมากในที่สำคัญ เช่น ทางเดินอาหาร ซึ่งทำให้ผู้ป่วยถึงแก่กรรม ปรากฏการณ์นี้แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงทางเลือดในโรค DHF นั้นเกิดคู่ขนานกันมากกับการดำเนินของโรค การเปลี่ยนแปลง

แปลงทางเลือดใน DHF จึงมีความสำคัญมาก เพราะเป็นปัจจัยที่ช่วยในการวินิจฉัย บ่งบอก Prognosis และเป็นกลไกสำคัญที่เกี่ยวข้องกับ Pathophysiology และ Pathogenesis ของภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ความรู้และความเข้าใจในเรื่องการเปลี่ยนแปลงทางเลือดในโรค DHF จึงเป็นประโยชน์มาก เพราะจะนำไปสู่ความเข้าใจใน Pathophysiology ของโรค ทำให้แพทย์สามารถให้การรักษาผู้ป่วยได้อย่างถูกต้อง

**การดำเนินของโรค** (รูปที่ 1) ในระยะต้นผู้ป่วยจะมีไข้สูงปวดเมื่อยตามตัวมาก มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน กดเจ็บบริเวณ epigastrium ตับโต และอาจตรวจพบ Pleural effusion ซึ่งเป็น transudate ที่ผิวหนังจะมีผื่นขึ้น (maculopapular rash) ซึ่งมีลักษณะเฉพาะ การตรวจ tourniquet test จะให้ผลบวก ต่อมาจะพบ petichia, purpura และ epistaxis การตรวจเลือดในวันแรก อาจพบ leukocytosis แต่ส่วนใหญ่จะอยู่ในเกณฑ์ปกติ ต่อมาจะเริ่มต่ำลงชัดเจนมากในประมาณวันที่ 3 หลังมีไข้



รูปที่ 1 การดำเนินของโรคในผู้ป่วย DHF

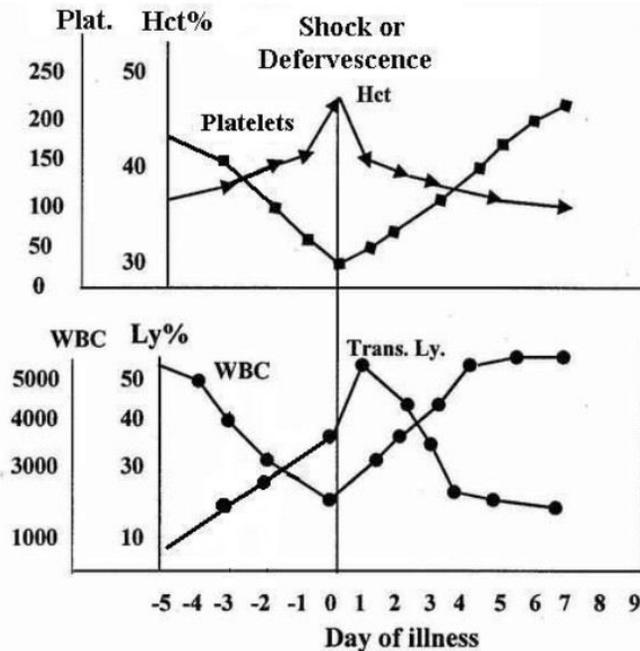
ได้รับต้นฉบับ 27 มิถุนายน 2546 ให้ลงตีพิมพ์ 11 กรกฎาคม 2546  
 ต้องการสำเนาต้นฉบับกรุณาติดต่อ ศ.เกียรติคุณ พญ.ถนอมศรี ศรีชัยกุล โรงพยาบาลวิชัยยุทธ ถ.เศรษฐศิริ พญาไท กรุงเทพฯ 10400

หรือ 2 วันก่อน shock ในระยะใกล้ shock จำนวนเม็ดเลือดขาวอาจต่ำลงกว่า 2,000/mm<sup>3</sup> สิ่งตรวจพบที่สำคัญคือจำนวน neutrophil จะลดลงเร็วและตรวจพบ lymphocytes โดยเฉพาะ transformed lymphocytes ซึ่งจะมีจำนวนมากในวันที่ 3 หรือ 4 ของโรค บางรายอาจถึง 60% เกร็ดเลือดจะเริ่มลดลงประมาณวันที่ 3 หรือ 4 ของโรค หรือ 2 วันก่อน shock มีจำนวนประมาณ 100,000/mm<sup>3</sup> ต่อมาจะลดลงอย่างรวดเร็วประมาณ 1 วันก่อนที่ใช้ลงหรือก่อน shock ระดับของเกร็ดเลือดมักต่ำกว่า 50,000/mm<sup>3</sup> หรืออาจลงต่ำสุดถึง 10,000/mm<sup>3</sup> ก็ได้ ในทางตรงข้าม Hematocrit (Hct) จะเริ่มสูงขึ้นช้าๆ ตลอด จนถึงระยะประมาณ 1 วันก่อนไข้ลงหรือ shock Hct จะขึ้นอย่างรวดเร็วบางรายสูงเกิน 40% (มากกว่า base line เกือบ 20%) การตรวจพบ severe leukopenia, granulocytopenia และ transformed lymphocytosis จำนวนมากกว่าเม็ดเลือดที่ลดลงต่ำสุดตามมาด้วย Hct ซึ่งสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะเวลาใกล้เคียงกัน เป็นปรากฏการณ์ทางเลือดที่สำคัญซึ่งใช้ในการวินิจฉัย DHF (รูปที่ 2)

**การเปลี่ยนแปลงทางเลือดใน DHF**

โดยสรุป มีดังนี้คือ

1. **Vasculopathy** มีการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญคือ มี increased vascular permeability ทำให้มี plasma leakage จากหลอดเลือดขนาดเล็ก เข้าใน third space มีผลให้เกิด hemoconcentration อย่างรวดเร็ว มี hypovolemia และเกิด shock ตามมา เป็นลักษณะสำคัญที่พบได้ในผู้ป่วย DHF เท่านั้น ทำให้แยกจาก dengue fever ซึ่งจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ plasma leakage
2. **Bone Marrow Suppression**
3. **เม็ดเลือดขาวต่ำ และมี transformed lymphocytes** ในเลือดจำนวนมากใกล้วันที่ไข้ลง หรือ shock
4. **Hemorrhagic diathesis**
5. **เกร็ดเลือดต่ำ**
6. **มีการเปลี่ยนแปลง coagulation** ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญมากในการทำให้เกิดเลือดออกรุนแรง เกิดจาก severe disseminated intravascular coagulation



รูปที่ 2 Hematocrit, Platelets และ Transformed Lymphocytes in DHF

(DIC) ซึ่งจะพบในผู้ป่วยที่มี shock อยู่เป็นระยะเวลานานมาก

### Vasculopathy<sup>15</sup>

การเปลี่ยนแปลงที่ผนังหลอดเลือดขนาดเล็กเป็นจุดเริ่มต้นสำคัญที่ทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ตามมาในผู้ป่วย DHF, กลไกที่ทำให้เกิด vasculopathy นั้น เกิดจากการจู่โจมของ dengue virus ต่อ endothelial cell และเกิดจากสาร mediator ต่างๆ ซึ่งเกิดขึ้นขณะที่มี hyperimmune reaction ใน secondary infection ของ DHF

ปรากฏการณ์ที่แสดงว่ามี increased vascular permeability และมี leakage ของ plasma จาก circulation ได้จากการศึกษาของนายแพทย์ประสงค์ ตูจินดา และคณะ ได้แสดงให้เห็นว่าในผู้ป่วยที่เป็น DHF นั้นมี increased permeability ของผนังหลอดเลือด โดยการฉีดสารกัมมันตภาพรังสี albumin ( $I^{131}$  albumin) เข้าไปในผู้ป่วย DHF และพบว่ามีการรั่วของ  $I^{131}$  albumin ออกไปนอกเส้นเลือด การค้นพบนี้ทำให้สามารถอธิบายปรากฏการณ์ในคนที่น่าจะมี plasma leakage จากหลอดเลือดอย่างรวดเร็ว เข้าสู่ third space ภายในระยะเวลาประมาณ 1-2 วันก่อน shock ทำให้เกิด hemoconcentration ระดับ Hct จึงสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ในระยะเพียง 1 วันก่อน shock หรือใช้สภาวะที่มี plasma leakage อย่างรวดเร็วทำให้เกิด pleural effusion, และเกิด hypovolemia รุนแรง ซึ่งถ้ามิได้รับการแก้ไขผู้ป่วยจะมีอาการ shock เกิดขึ้น (Dengue Shock Syndrome) การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเกิดขึ้นในระยะสั้นมาก และเมื่อผู้ป่วยฟื้นแล้วไม่พบ permanent damage ที่ผนังหลอดเลือด ทำให้เข้าใจว่ากลไกที่ทำให้เกิด vascular permeability มากขึ้นน่าจะเกิดจาก mediators ซึ่งเกิดขึ้นในระหว่างที่มี hyperimmune reaction ในผู้ป่วย 2<sup>nd</sup> DHF สาร mediators ที่ค้นพบนั้น ได้แก่ C3a, C5a ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นอย่าง

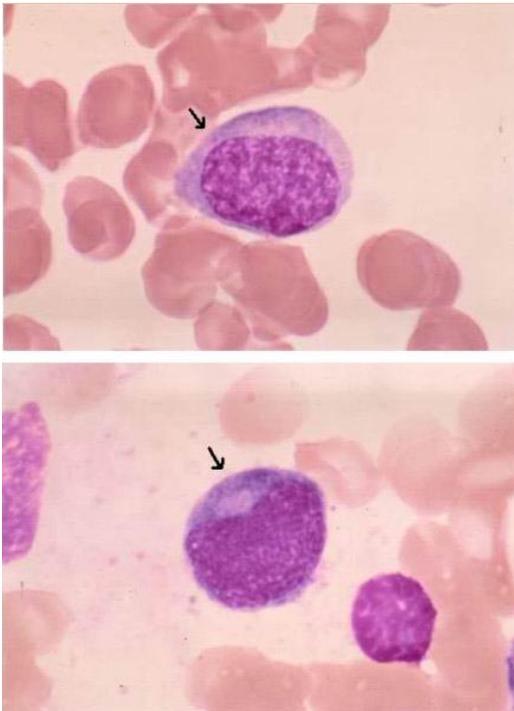
รุนแรงของ complement system<sup>2,3</sup> สาร cytokines ต่างๆ ที่หลังจากเซลล์ macrophage และ T lymphocytes พบในปัจจุบันได้แก่ TNE  $\alpha$  interleukin 1 (IL-1), IL-2, IL-6 และ IFN  $\gamma$  ระดับของสารต่างๆ ที่หลั่งออกมา ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของปฏิกิริยา complement มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค และพบในระยะเวลาเดียวกับที่ผู้ป่วยมี Hct สูงสุด และมี shock เกิดขึ้น<sup>45</sup>

การเกิด vascular injury ต่อ endothelial cells ซึ่งเป็นผลจาก cytokines และ mediators ร่วมกับการจู่โจมของ dengue virus ทำให้มีการหลั่งสารกระตุ้น clot เกิดขึ้น สารที่สำคัญได้แก่ tissue factor, ทำให้ผู้ป่วย DHF มีภาวะ hypercoagulability ตามมา มีการเกิด DIC ซึ่งจะชัดเจนและรุนแรงในรายที่มี shock หรือ severe shock ซึ่งจะได้กล่าวต่อไป

### Peripheral Blood

การเปลี่ยนแปลงทาง peripheral blood ที่สำคัญคือ hemoconcentration ดังได้กล่าวแล้ว ข้อควรสังเกตคือ ในผู้ป่วย DHF จะไม่มี anemia การตรวจพบ anemia หรือไม่พบ hemoconcentration ในผู้ป่วย DHF ที่มี shock นั้น บ่งชี้ว่าผู้ป่วยน่าจะมีสาเหตุอื่นๆ แทรกซ้อนเข้ามา เช่น อาจมี hemolysis จากภาวะขาด G6PD หรือ underlying thalassemia ที่สำคัญที่สุดที่ต้องนึกถึงคือภาวะ concealed hemorrhage ที่ใดที่หนึ่ง เช่น เลือดออกจากกระเพาะ เพราะมี severe gastritis ซึ่งอาจเกิดจากยา เช่น aspirin, corticosteroid หรือมี hypermenorrhea เมื่อพบแล้วควรได้รับการแก้ไขด่วนโดยการให้เลือดเพื่อ maintain blood volume มิฉะนั้นผู้ป่วยจะมีอาการ shock ตามมา ทำให้มีภาวะแทรกซ้อนรุนแรงอื่นๆ ยากแก่การแก้ไข นอกจากนั้นจำเป็นต้องรีบทำให้เลือดหยุดโดยเร็วที่สุด สำหรับเรื่องของเม็ดเลือดขาว พบ leukopenia และ granulocytopenia ชัดเจนร่วมกับพบ transformed lymphocytes เพิ่มขึ้นอย่าง

รวดเร็วตั้งแต่วันที่ 3 ของโรค สำหรับ transformed lymphocytes นี้ เป็นทั้ง  $\beta$  และ T lymphocytes ที่ถูกกระตุ้นจาก dengue virus, (รูปที่ 3) สุดท้ายคือเกร็ดเลือดต่ำพบรวดเร็วและรุนแรงมาก หลังจากมีไข้ประมาณ 3-4 วัน อาจพบ giant platelets ใน smear เลือดด้วยปรากฏการณ์ที่มี severe thrombocytopenia, severe granuloctopenia ร่วมกับการเพิ่มจำนวนของ transformed lymphocytes ซึ่งจะเกิดขึ้นในระยะเวลาเดียวกันคือ ในประมาณ 1-2 วันก่อนไข้ลง หรือ shock นี้มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค ดังได้กล่าวแล้วแต่ข้างต้น หลังจากผู้ป่วยฟื้นจาก shock หรือไข้ลงแล้ว Hct จะกลับสู่ระดับปกติในเวลาเพียง 1-2 วัน ระดับเม็ดเลือดขาวและเกร็ดเลือดจะฟื้นตัวเข้าสู่ภาวะปกติภายใน 7 วันอย่างไรก็ตาม transformed lymphocytes อาจยังตรวจพบต่อไปได้นานกว่านั้นจึงจะหายไปจากเลือด



รูปที่ 3 กข แสดงลักษณะของ transformed lymphocytes ในไขเลือดออก

### Bone Marrow Suppression

การกดไขกระดูกจากเชื้อ dengue virus นั้นมีผู้ศึกษาไว้ทั้งในสัตว์ทดลองและในคน ในสัตว์ทดลองพบว่า การกดไขกระดูกเกิดขึ้นประมาณ 4-5 วัน หลังจากได้รับเชื้อไวรัสเข้าสู่ร่างกายซึ่งยังเป็นระยะระหว่าง incubation period ระยะเวลาที่กดไขกระดูกจะเกิดประมาณ 10 วัน ก็จะฟื้นกลับเป็นปกติ การกดไขกระดูกส่งผลให้เกิด mild granulocytopenia และ mild thrombocytopenia ในระยะต้นของโรคคือประมาณวันที่ 1-3 สำหรับกลไกที่ทำให้เกิด severe granulocytopenia และ severe thrombocytopenia ในระยะต่อมานั้นแม้ว่าจะเกิดจากการกดไขกระดูกได้บ้าง แต่จะมีกลไกสาเหตุอื่นๆ ที่สำคัญกว่า ซึ่งจะได้กล่าวต่อไป

ปรากฏการณ์ที่แสดงว่ามีการกดไขกระดูกในผู้ป่วย DHF นั้น ได้จากการศึกษาไขกระดูกในผู้ป่วย DHF ในระยะเริ่มต้นของโรค พบว่ามีเนื้อน้อย (hypocellularity) จำนวนเซลล์ตัวอ่อนของระบบเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว granulocytes และเกร็ดเลือด ลดลง bone marrow suppression นี้จะเกิดประมาณ 10 วัน และจะเริ่ม recover ในระยะเวลาประมาณ 1-2 วันก่อน shock หรือไข้ลง ในระยะที่มีการฟื้นตัวของไขกระดูกจะตรวจพบเซลล์ตัวอ่อนมากขึ้นทุกระบบ แต่ยังพบร่องรอยของ nuclear damage ของ megakaryocytes ให้เห็นชัดเจน นอกจากนี้ยังพบ hemophagocytosis ในระยะนี้ด้วย ซึ่งอาจเป็นคำอธิบายกลไกอันหนึ่งของ severe granulocytopenia และ severe thrombocytopenia ที่พบในระยะหลังก็ได้<sup>7-12</sup> การศึกษา in vitro โดยทำการเพาะเลี้ยงไขกระดูก พบว่ามีการลดลงของ colony forming unit ของ granulocyte และ monocyte (CFU-GM) ชัดเจน โดยมีลักษณะของ colony เล็กและผิดปกติด้วย<sup>13</sup>

กลไกการกดไขกระดูกในผู้ป่วย DHF นั้นน่าจะเกิดขึ้นจากสาเหตุ 3 ประการใหญ่ๆ คือ 1) การโจมตีของ dengue virus ต่อ stem cells ของเม็ดเลือดไข

กระดูกโดยตรง<sup>14-15</sup> 2) การเจริญของไวรัสต่อ stromal cells ในไขกระดูก<sup>16-17</sup> และ 3) การเปลี่ยนแปลงของตัวควบคุมการสร้างเม็ดเลือดโดยการหลั่งสารที่มีฤทธิ์กดไขกระดูก เช่น สาร macrophage inflammatory protein 1 alpha (MIP-1 $\alpha$ ), IL6, IL-8 สารดังกล่าวนี้ถูก release จาก stromal cell ในไขกระดูกที่ถูกโจมตีโดยไวรัส<sup>18-20</sup> ในระยะหลังมีการค้นพบว่า มี cytokine ที่มีฤทธิ์กดการสร้างเม็ดเลือดในไขกระดูก เช่น TNF- $\alpha$ , IL2, IL6, IL8, INF  $\alpha$  และ INF  $\gamma$  ซึ่งถูกหลั่งออกมาจาก macrophage และ T lymphocyte ในภาวะที่มี hyperimmune reaction ในขณะที่เป็น DHF สารดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค และตรวจพบเป็นจำนวนมากในช่วงเวลาที่มีการกดไขกระดูกเกิดขึ้น<sup>21-28</sup>

โดยสรุป การกดไขกระดูกทำให้มีการสร้างเม็ดเลือดน้อยลงใน DHF หรือ DF, เกิดจากการโจมตีของไวรัสต่อ hematopoietic stem cell และ stromal cell ในไขกระดูก ทำให้ความสามารถในการสร้างเม็ดเลือดน้อยลง ร่วมกับการเพิ่มของสาร cytokines ต่างๆ ที่เกิดขึ้นในขณะที่มี DHF สารเหล่านี้มีฤทธิ์ในการกดการสร้างเม็ดเลือด การสร้างเม็ดเลือดตัวอ่อนในไขกระดูกที่ลดลงนี้มีผลทำให้เกิด mild granulocytopenia และ mild thrombocytopenia ตามมาในระยะแรกของโรค การกดการสร้างเม็ดเลือดนี้เกิดขึ้นในช่วงระยะสั้นเพียงประมาณ 10 วัน และหลังจากนั้นไขกระดูกก็จะฟื้นตัวเป็นปกติในระยะเวลาที่ viremia ใกล้จะหมด ไขเริ่มลง และผู้ป่วยอาจจะเกิด shock ขึ้น หลังจากไขกระดูกฟื้นตัวแล้วผู้ป่วยยังมี severe granulocytopenia และ thrombocytopenia ต่อไปจนกว่าไขลงหรือฟื้นจาก shock แล้วต่อมา granulocytopenia และ thrombocytopenia ก็จะเริ่มฟื้นตัวกลับมาเป็นปกติภายในเวลาประมาณ 7 วัน สำหรับ transformed lymphocyte อาจตรวจพบได้นานต่อไปประมาณ 2-3 อาทิตย์ หลังไขลงแล้ว

### Hemorrhagic diathesis

อาการเลือดออกในผู้ป่วย DHF นั้นมีความรุนแรงแตกต่างกัน โดยทั่วไปมักจะไม่รุนแรงมาก จะพบตั้งแต่ในวันที่ 2-3 ของโรค โดยปรากฏเป็น petechia และ purpura การตรวจ tourniquet's test จะให้ผลบวกในระยะแรกเริ่มตั้งแต่เกร็ดเลือดยังไม่ต่ำ บริเวณที่เจาะเลือดจะมีรอยจ้ำเกิดขึ้นเสมอถ้ามิได้ใช้ pressure กดไว้นานเพียงพอ อาการเลือดกำเดาออกจะพบได้ตั้งแต่เล็กน้อยจนถึงรุนแรงมาก กลไกสำคัญที่ทำให้เลือดออกในระยะนี้ได้แก่ ภาวะเส้นเลือดเปราะ เกร็ดเลือดต่ำลง และเสียหน้าที่ไป สำหรับอาการเลือดออกที่รุนแรง จนต้องให้เลือดนั้น มักจะเกิดขึ้นที่กระเพาะอาหาร ซึ่งมีสาเหตุ 2 ประการคือ ประการแรก ถ้าเกิดในระยะแรก เป็นจาก host ซึ่งอาจจะได้รับยา เช่น aspirin, corticosteroid หรือเป็น gastric ulcer ซึ่ง precipitate โดยยา นอกจากนั้นในบางรายอาจมี hypermenorrhoea มากจน shock ได้ ผู้ป่วยที่มีเลือดออกรุนแรงดังกล่าวต้องรีบแก้ไข โดยให้เลือดให้เต็มทีเพื่อป้องกัน shock ซึ่งจะทำให้เกิด DIC และภาวะแทรกซ้อนรุนแรงตามมา ควรให้เกร็ดเลือดในรายที่เกร็ดเลือดต่ำเพื่อหยุดอาการเลือดออกด้วย สำหรับประการที่สอง ที่มีเลือดออกรุนแรงในระยะหลังของโรค สาเหตุเกิดจาก severe coagulopathy ซึ่งเกิดจาก DIC และมักเกิดในผู้ป่วยที่มี shock เป็นเวลานาน แก้ไขไม่พิน ในกรณีนี้ต้องรีบแก้ไข shock ให้ replacement therapy เต็มที่ และถ้าเลือดยังไม่หยุดต้องหาวิธีทำให้เลือดหยุดให้ได้ มิฉะนั้นผู้ป่วยจะถึงแก่กรรมจาก intractable shock, severe DIC, severe bleeding และ multiorgan failure

การเปลี่ยนแปลงของเกร็ดเลือด มีอยู่ 2 ประการใหญ่ๆ คือ

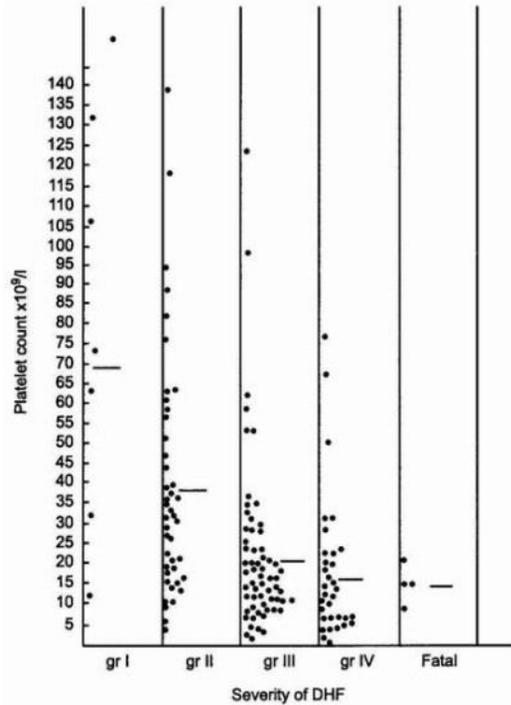
1. Thrombocytopenia
2. Platelet dysfunction

**Thrombocytopenia**

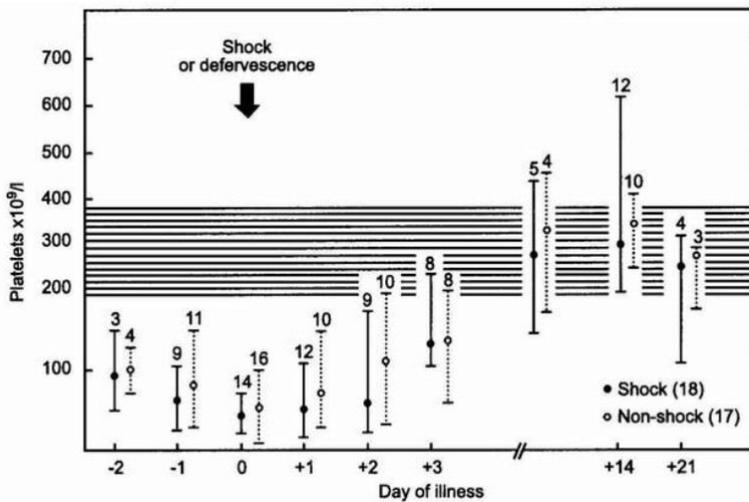
ปรากฏการณ์ของ thrombocytopenia จะเริ่มขึ้นตั้งแต่ประมาณวันที่ 2-3 ของไข้ และจะลดลงอย่างรวดเร็วในระยะ 1-2 วันก่อนไข้ลง หรือ shock ความรุนแรงของ thrombocytopenia มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับความรุนแรงของโรค (รูปที่ 4) ในผู้ป่วย shock (DHF grade III - IV) เกร็ดเลือดจะลดลงต่ำสุดถึง 10,000/mm<sup>3</sup> ประมาณ 15% ของผู้ป่วย shock ซึ่งมีเกร็ดเลือดต่ำกว่า 50,000 จะมีอาการเลือดออกรุนแรงได้<sup>29</sup> ความรุนแรงของ thrombocytopenia จะมีความสัมพันธ์กับปฏิกิริยา complement และระดับของ plasma kinin<sup>30,31</sup> จากรายงานของแพทย์หญิงถนอมศรี ศรีชัยกุล และคณะ พบว่า เกร็ดเลือดลดลงต่ำกว่า 10,000/mm<sup>3</sup> ในระยะเพียง 1-2 วัน ก่อน shock และเมื่อเข้าสู่ระยะฟื้นตัวเกร็ดเลือดจะขึ้นมาสู่ระดับปกติภายใน 7 วัน<sup>32</sup> (รูปที่ 5)

กลไกการเกิด thrombocytopenia นั้น มีอยู่ 2 ประการใหญ่ๆ ประการแรกคือ มีการสร้างน้อยลงในระยะเริ่มต้นของโรค ดังได้กล่าวแล้ว ประการที่สองซึ่งเป็นที่สำคัญมากคือ การถูกทำลายในตับและม้าม หลักฐานสนับสนุนที่สำคัญคือในรายที่พบ severe

thrombocytopenia ซึ่งมักจะเป็นเวลาประมาณ 1-2 วันก่อน shock หรือไข้ลง จะตรวจพบ megakaryocytes ในไขกระดูกเป็นจำนวนมาก แสดงว่ามีการทำลาย



**รูปที่ 4** ระดับเกร็ดเลือดกับความรุนแรงของ DHF กลุ่มต่างๆ (Nimmannitya et al, 1987)



**รูปที่ 5** ระดับเกร็ดเลือดในผู้ป่วย DHF 35 ราย ในระหว่างการดำเนินของโรค แสดงความสัมพันธ์กับระยะเวลาและความรุนแรงของโรค (จำนวนตัวเลข = จำนวนของผู้ป่วย) (Srichaikul et al, 1989)

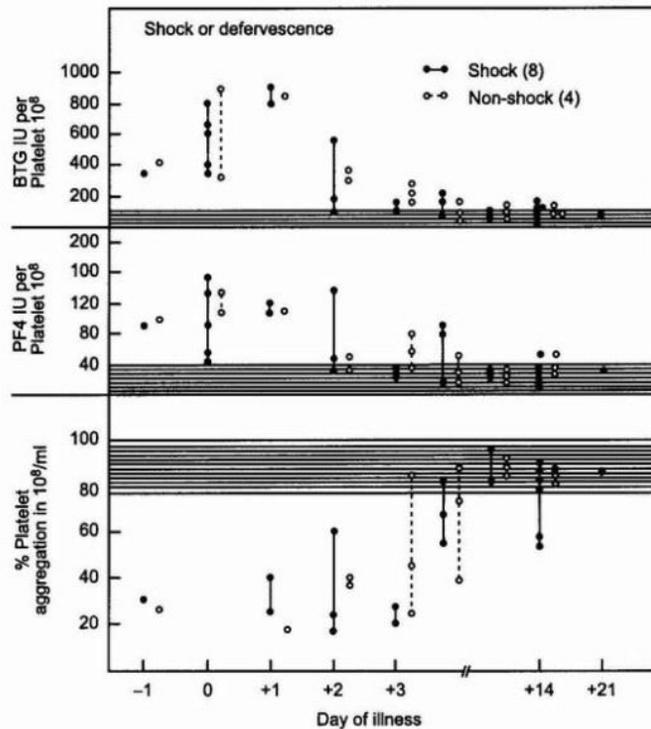
เกร็ดเลือดที่ปลายทาง จากงานของแพทย์หญิงชูลี มิตรกุล ได้แสดงให้เห็นว่าในระหว่างที่มี DHF นั้น อายุเกร็ดเลือดจะสั้นลง และการทำลายของเกร็ดเลือดเกิดที่ตับมากกว่าม้าม<sup>33</sup> การศึกษาต่อมาแสดงให้เห็นว่า การทำลายของเกร็ดเลือดนั้นเกิดโดยกลไกทาง immune โดยการตรวจพบ C3, immune complex ของ dengue antigen และ antibody บนผิวของเกร็ดเลือด จำนวนของ C3 และ immune complex บนผิวของเกร็ดเลือดมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของ thrombocytopenia และระยะเวลาที่เกิดในระหว่างใกล้ shock หรือช็อก<sup>34-38</sup> งานของ Funahara และคณะ ยังแสดงให้เห็น in vitro ว่ามี interaction ระหว่างเกร็ดเลือดและ endothelial cell ที่มี DV ร่วมด้วย ทำให้เกิด platelet aggregation แล้วมี lysis และเกิด thrombocytopenia ตามมา<sup>36</sup> งานนี้ทำให้สันนิษฐานว่า endothelial cell ที่ถูก infect โดย dengue virus นั้น มีการเปลี่ยนแปลงทำให้มีเกร็ดเลือดมาเกาะกลุ่มที่เซลล์ดังกล่าว ต่อมา platelet aggregation และมีต่อมาจะ lysis มี thrombocytopenia ตามมา การเกาะของเกร็ดเลือดที่ผนังหลอดเลือดน่าจะเป็นจุดเริ่มต้นของการเกิด platelet fibrin thrombi การเกิด lysis ของเกร็ดเลือดใน circulation ทำให้มีการ release สารบางอย่างซึ่งสามารถกระตุ้นการเกิด clot ในหลอดเลือดขนาดเล็กให้เกิดตามมาได้ ปฏิกิริยา complement ที่รุนแรงก็ดี การเกิด platelet lysis ก็ดี เป็นกลไกกระตุ้นการเกิด clot การเกิด clot ทำให้มีการนำเกร็ดเลือดมาใช้จึงยิ่งทำให้เกิด thrombocytopenia มากขึ้น

โดยสรุปกลไกการเกิด thrombocytopenia ใน DHF มีอยู่ 3 ประการคือ 1) การกีดขวางในไซกระดุก 2) เกร็ดเลือดถูกทำลายในตับ ม้าม จากกลไกทางภูมิคุ้มกัน และ 3) การนำไปใช้ในการเกิด clot (disseminated intravascular coagulation)

### Platelet Dysfunction

การเปลี่ยนแปลงในหน้าที่ของเกร็ดเลือดนั้นได้มีผู้

ศึกษาไว้มาก รายงานจากแพทย์หญิงชูลี มิตรกุล และ นายแพทย์วินัย สุวัตถิ พบว่าในระหว่าง acute phase ของ DHF เกร็ดเลือดไม่สามารถ release ADP ได้<sup>33,33a</sup> การศึกษาของแพทย์หญิงธนอมศรี ศรีชัยกุล และคณะ<sup>39</sup> ได้แสดงให้เห็นว่า เกร็ดเลือดสนองต่อการกระตุ้นด้วย ADP น้อยลงใน vitro ปรากฏการณ์นี้พบได้ตั้งแต่ระยะเริ่มต้นของโรคในวันที่ 1-2 งานนี้ยังแสดงให้เห็นว่า ในขณะที่ผู้ป่วยเป็น DHF นั้นได้มีการหลั่งสาร beta-thromboglobulin (BTG) และ platelet factor 4 (PF4) ออกมาในเลือด และพบว่าพลาสมาของผู้ป่วย acute DHF สามารถกระตุ้น platelet aggregation ในหลอดทดลองได้ด้วย ความผิดปกติที่เกิดขึ้นในระยะต้นตั้งแต่วันแรกของโรค และจะกลับคืนสู่สภาพปกติในระยะเวลาเพียง 2 อาทิตย์หลังจากผู้ป่วยฟื้นจากโรค (รูปที่ 6) และไม่พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างความผิดปกติกับความรุนแรงของโรค การตรวจพบทั้งหมดนี้สันนิษฐานได้ว่าในระยะแรกของ acute DHF น่าจะมีการกระตุ้นเกร็ดเลือดโดยกลไกบางอย่างเช่น จาก immune complex หรือ dengue virus ทำให้เกร็ดเลือดอยู่ในสภาพ hyperactive จึงมีการหลั่งสาร BTG และ PF4 จาก platelet granule ออกมาในกระแสเลือด เกร็ดเลือดที่เหลืออยู่ใน circulation เป็นเกร็ดเลือดที่อยู่ในสภาพ exhaust (circulating exhausted platelets) จึงไม่สามารถจะทำงานตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย ADP ทำให้เกิดปรากฏการณ์ hypoaggregation ได้ งานนี้ต่อมาได้รับการสนับสนุนจากการศึกษาของนายแพทย์อุดม จันทลักษณ์ศรี และคณะ โดยพบว่า เกร็ดเลือดในผู้ป่วยไข้เลือดออกไม่สามารถสนองต่อการกระตุ้นด้วย ADP และไม่สามารถ release ADP ออกมาได้<sup>40</sup> งานของ Krishnamuri และพวกในระยะเวลาหลังได้แสดงให้เห็นว่าในระหว่าง acute DHF มีการหลั่งสาร sP-selectin ซึ่งน่าจะมาจาก activated platelet และระดับของสารนี้มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค<sup>41</sup>



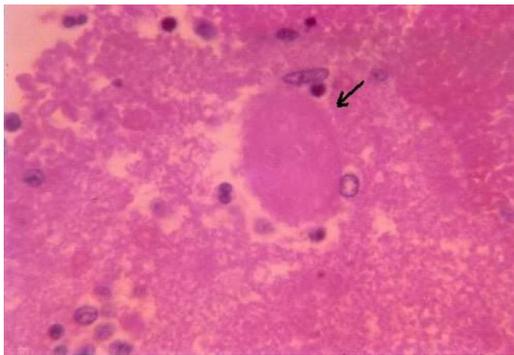
รูปที่ 6 Platelet aggregation, BTG, PF4 ในผู้ป่วย DHF 12 ราย (Srichaikul et al 1989)

### Coagulopathy and Disseminated Intravascular Coagulation (DIC)

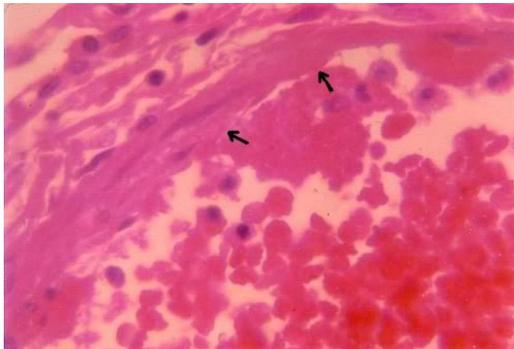
ความผิดปกติทาง coagulation ในผู้ป่วย DHF นั้น มีผู้ศึกษาไว้มากมายพบว่า ผู้ป่วย DHF นั้นจะมี fibrinogen ต่ำ มี FDP หรือ D-dimer สูงขึ้นเกือบทุกราย<sup>33,45-46</sup> นอกจากนั้นพบว่ามี การลดลงของ clotting factor ต่างๆ เช่น factor II, V, VII, VIII, IX, X และ XII<sup>42</sup> ในผู้ป่วยบางรายด้วย การตรวจทาง coagulogram พบว่ามี prolong partial thromboplastin time และ prothrombin time ร้อยละ 60 และ 30 ของผู้ป่วย<sup>33</sup> จากการศึกษาไม่พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างความผิดปกติเหล่านี้กับการเสื่อมหน้าที่ของตับ<sup>43</sup> ในทางตรงกันข้ามพบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างความรุนแรงของ coagulopathy กับ severe thrombocytopenia, ระดับ FDP ที่สูงขึ้น และ shock ทำให้เชื่อว่ากลไกสำคัญในการเกิด coagulopathy ใน DHF น่าจะมีสาเหตุมาจาก DIC มาก

กว่าจากการที่ตับเสื่อมหน้าที่ การตรวจพบระดับของ FDP และ D-dimer ที่สูงขึ้น สันนิษฐานว่าน่าจะมี low grade hyperfibrinolysis ซึ่งเกิดตามหลัง DIC

หลักฐานสำคัญซึ่งสนับสนุนว่าในผู้ป่วย DHF มีภาวะ DIC เกิดขึ้นนั้นมีอยู่ 2 ประการคือ 1) การตรวจพบ fibrin thrombi ในหลอดเลือดเล็กๆ ทั่วไปในอวัยวะต่างๆ เช่น ปอด ไชกระดุก ไต และต่อมหมวกไต ในผู้ป่วยผู้ใหญ่ 2 ราย ซึ่งตายจาก DHF ที่มี severe bleeding, intractable shock และ multiorgan failure<sup>32</sup> (รูปที่ 7) นอกจากนั้นยังมีรายงานพบ platelet fibrin thrombi ใน brain ของผู้ป่วย DHF เด็ก grade 2 ซึ่งตายจากภาวะแทรกซ้อนทางสมอง (Hemsrichart V, personal communication 1985) 2) การศึกษาในระยะต่อมาโดยแพทย์หญิงถนอมศรี ศรีชัยกุล และคณะ<sup>43</sup> พบว่ามีการใช้ radioactive fibrinogen ( $I^{125}$ -fibrinogen) ในผู้ป่วย DHF เพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงโดย T1/2



ก



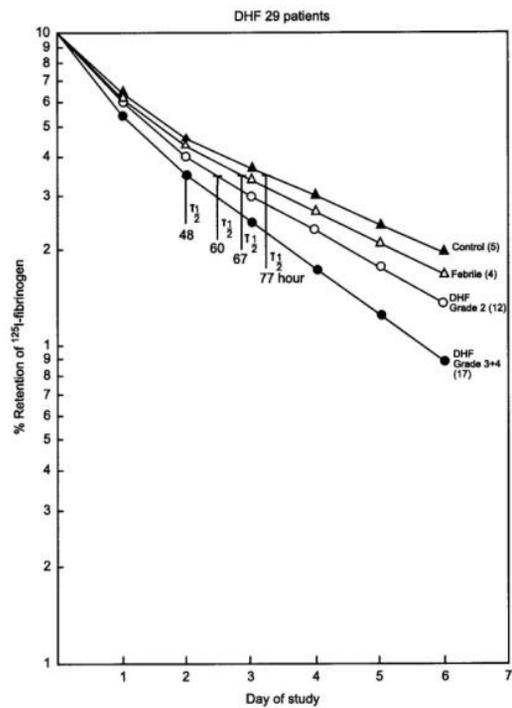
ข

**รูปที่ 7** แสดง fibrin thrombi ในผู้ป่วย DHF ที่ถึงแก่กรรมด้วย severe shock, severe DIC และ intractable bleeding

ก. Clot ในหลอดเลือดฝอยในปอด

ข. Platelet fibrin thrombi เกาะที่ผนังหลอดเลือดในปอด

ของ  $I^{125}$  fibrinogen สิ้นลง (รูปที่ 8) การศึกษานี้แสดงว่าในขณะที่ผู้ป่วยเป็น DHF ได้มีการนำเอา fibrinogen ไปใช้ในการเกิด clot ความผิดปกติของ  $T_{1/2}$  นี้มีความสัมพันธ์กับค่าของ PTT และ PT ที่ยาวออก และความรุนแรงของโรค กล่าวคือในผู้ป่วย grade 3, 4 มี  $T_{1/2}$  สั้นกว่าผู้ป่วย grade 1, 2 (48 ชั่วโมง vs 60 ชั่วโมง) นอกจากนั้นความผิดปกติทาง  $T_{1/2}$  จะพบมากกว่าและรุนแรงในผู้ป่วยกลุ่มที่มี shock ถึงร้อยละ 82 เปรียบเทียบกับกลุ่ม non-shock ซึ่งพบเพียงร้อยละ 56 (รูปที่ 9) จากการศึกษาที่สรุปได้ว่า ในผู้ป่วยที่เป็น DHF นั้นได้มี DIC เกิดขึ้นตั้งแต่ในระยะ non-shock แต่จะ

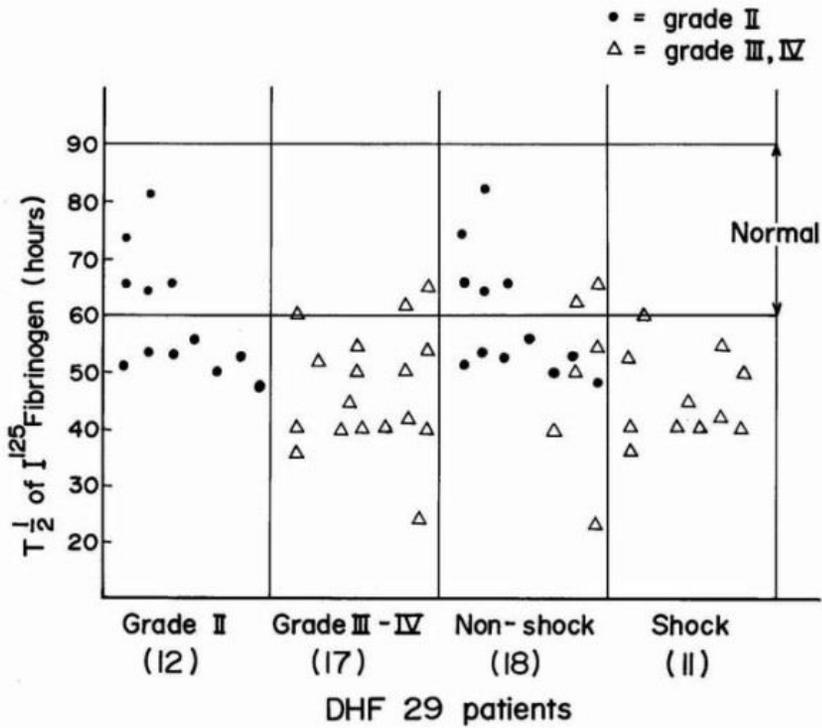


**รูปที่ 8** Plasma disappearance curve และ mean  $T_{1/2}$  ในผู้ป่วย DHF และ control (control, febrile, subject และ DHF grade 2 และ grade 3+4) (จำนวนตัวเลขในวงเล็บ = จำนวน subject ที่ศึกษา) (Srichaikul et al, 1977)

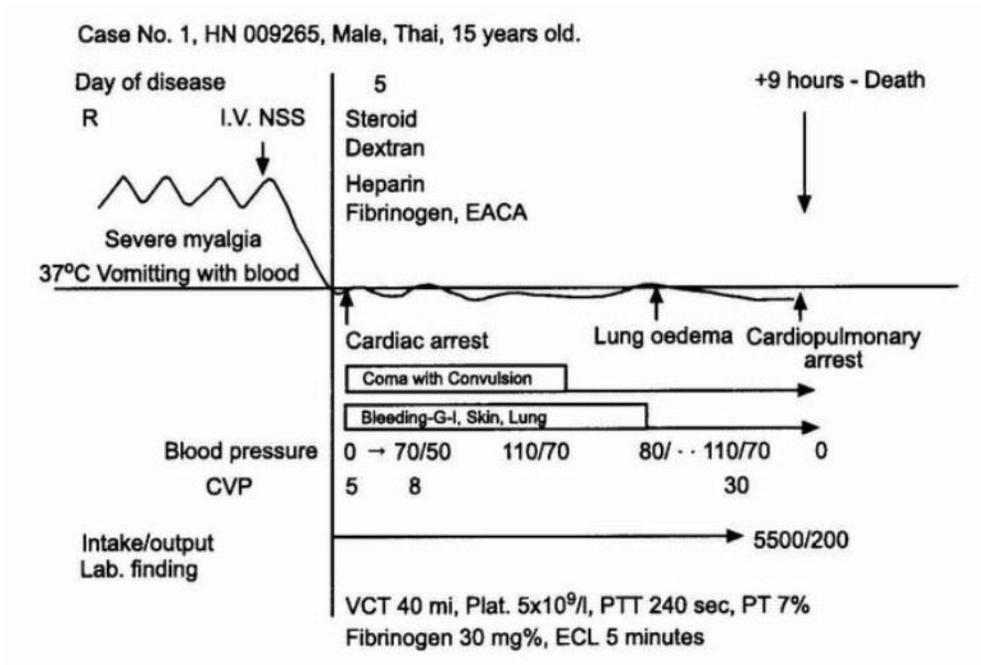
ชัดเจนมากขึ้นในระยะ shock โดยทั่วไป DIC ที่เกิดเป็น subclinical DIC ไม่มีความรุนแรงมาก และเมื่อให้การรักษา shock ทันที DIC ก็จะหายไปเมื่อคนไข้ฟื้นจาก shock, จากการศึกษาในผู้ป่วย 29 ราย ที่แพทย์หญิงถนอมศรี ศรีชัยกุล และคณะ ได้ทำไว้ไม่มีผู้ป่วยรายใดถึงแก่กรรม และไม่ได้ใช้ heparin เลย<sup>43</sup>

สำหรับผู้ป่วยที่มี prolong shock มี severe acidosis และได้รับการรักษาไม่ทัน จะมี DIC เกิดขึ้นรุนแรงมาก จนมีเลือดออกอย่างรุนแรง และถึงแก่กรรมจาก multiorgan failure, shock และเลือดออกรุนแรง<sup>32</sup> (รูปที่ 10)

กลไกการเกิด DIC ใน DHF นั้นเป็นกลไกผสม กล่าวคือ 1) จาก endothelial cells injury ทำให้มีการ release tissue factor (factor 3) ทำให้กระตุ้นการเกิด



รูปที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่าง T<sub>1/2</sub> ของ fibrinogen และความรุนแรงของ DHF 29 ราย (18 ราย - DIC, 14 ราย - Non-DIC) (Srichaikul et al 1997)



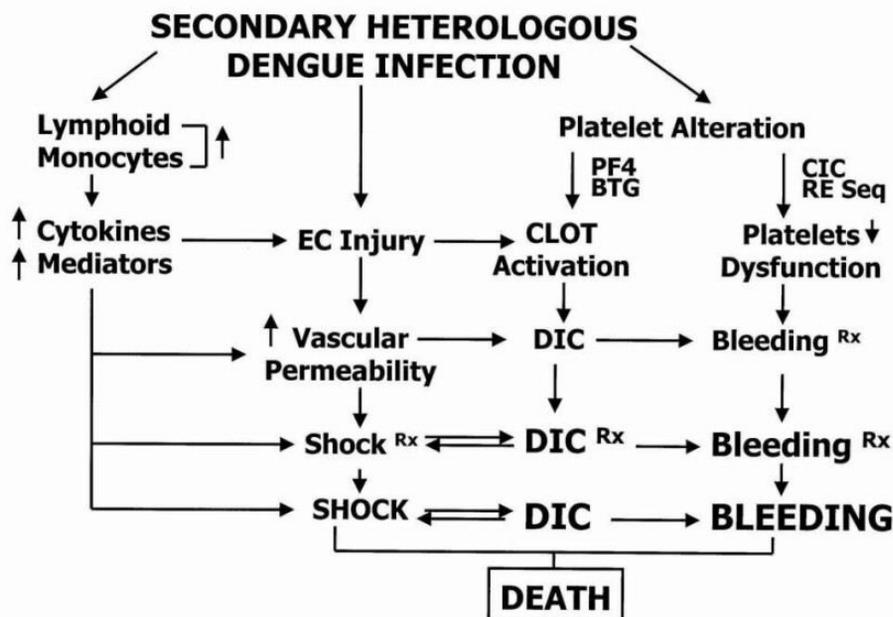
รูปที่ 10 Fatal DHF in a patient with shock, severe DIC and bleeding (Srichaikul, 1975)

clot ขึ้น 2) จาก activated platelet ซึ่งมีการหลั่งสารต่าง ๆ เช่น PF4, PF3, BTG ร่วมกับการเกิด aggregation และ lysis ที่เกิดในหลอดเลือดเล็กๆ เป็นกลไกผสมที่กระตุ้นให้เกิด clot มากขึ้น 3) ปฏิกริยา immune รุนแรง เช่น complement activation ร่วมกับการหลั่ง cytokines ต่างๆ มีบทบาทในการเร่งการเกิด clot ซึ่งส่วนหนึ่งผ่านทาง endothelial cell injury ทำให้มีการหลั่ง tissue factor 4) การสูญเสียพลาสมาทำให้มี hypovolemia มี shock และ microcirculation ข้างลง เป็นตัวการสำคัญในการ trigger DIC ให้เกิดมากขึ้น DIC ที่รุนแรงจะกระตุ้น shock ให้รุนแรงตามมา เกิดเป็น vicious cycle คนไข้จะมี intractable shock, เลือดออกรุนแรง, multiorgan failure และถึงแก่กรรม

นั้นเริ่มจาก vasculopathy ทำให้มี plasma leakage มี hypovolemia และมี shock ตามมา DHF ที่มี shock ได้รับชื่อว่า Dengue Shock Syndrome (DSS) สาเหตุใหญ่ๆ ที่ทำให้เกิด DSS นั้นมี 2 ประการคือ 1) dengue virus เป็นต้นเหตุสำคัญในการเกิด vasculopathy, shock, การทำลายเกร็ดเลือด และการเกิด hyperimmune reaction (ในรายที่เป็น secondary DHF infection) 2) ปฏิกริยาทาง hyperimmune นำไปสู่การเกิด vasculopathy, shock, การทำลายเกร็ดเลือด และการเกิดลิ่มเลือด สิ่งต่างๆ ที่ได้กล่าวมาแล้วนี้ ไม่ว่าจะเป็น dengue virus, vasculopathy, hyperimmune reaction, การเปลี่ยนแปลงของเกร็ดเลือด และ hypercoagulability เป็นกลไกที่เชื่อมโยงกันเป็นลูกโซ่ ทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ตามมา (รูปที่ 11) ความเข้าใจในเรื่อง pathophysiology ของ DHF ความสำคัญของการเปลี่ยนแปลงทางเลือด ซึ่งบ่งชี้ prognosis และการรักษาที่ทันการณ์ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งสำหรับ

**สรุป**

DHF นั้นเกิดจากการติดเชื้อ dengue virus ซึ่งมี 4 ชนิด (DEN1-4) pathophysiology ที่สำคัญใน DHF



**รูปที่ 11** Pathophysiology and Pathogenesis of Dengue Hemorrhage Fever

CIC = circulating immune complex; EC = endothelial cell; Seq = sequestration

แพทย์ การรักษา DHF ที่ดีที่สุด คือการให้การวินิจฉัยรวดเร็ว ให้การรักษาทันทีอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งจะช่วยให้ผู้ป่วยรอดชีวิตได้

อัตราการตายของผู้ป่วย DHF ตั้งแต่เริ่มระบาดในประเทศไทย ประมาณปี พ.ศ. 2498 จากประสบการณ์ของผู้เขียนในขณะนั้นสูงมากเกือบร้อยละร้อย บัดนี้ลดลงจนเหลือประมาณ 1-5% ทั้งนี้ด้วยการศึกษาวิจัยซึ่งได้กระทำกันมาตลอดเกือบ 50 ปี ทำให้เกิดความรู้ ความเข้าใจ และการให้การรักษาของแพทย์ผู้ดูแลอย่างทันที่ และถูกต้อง ปัญหาข้างหน้าของ DHF นั้นยังไม่จบ ทั้งในด้านของระบาดวิทยา การป้องกันโรค และท้ายที่สุดคือการรักษาเพื่อช่วยชีวิตผู้ป่วยหนักมาก ซึ่งมีภาวะ prolong shock, severe bleeding และ multiorgan failure, ปัญหาที่มีความสำคัญและรีบด่วนที่ต้องการศึกษาวิจัยต่างๆ เพื่อให้ได้การรักษาที่ดีที่สุดและได้ผลที่สุดในการช่วยชีวิตผู้ป่วยดังกล่าว สำหรับการรักษาดูแลด้วยการทำ exchange transfusion, ตลอดจนการใช้ anticoagulant นั้นเคยมีผู้รายงานไว้ประปรายว่าได้ผลดี<sup>32,48-50</sup> แต่ทั้งนี้ขึ้นกับดุลยพินิจของแพทย์ผู้รักษา และระยะของโรคที่แพทย์ตรวจพบในขณะนั้น ปัจจุบันได้มีการนำเอา concentrate factor 7 (NOVO-7) มาใช้เ็นผู้ป่วย DHF ที่มี severe shock, intractable severe bleeding ปรากฏว่าได้ผล 10 จาก 12 ราย<sup>51</sup> การศึกษานี้จึงน่าจะกระทำต่อไปเพื่อให้ได้คำตอบที่ชัดเจน และเป็นประโยชน์สามารถช่วยชีวิตผู้ป่วย DHF ในกลุ่มดังกล่าวซึ่งในปัจจุบันอัตราการตายยังสูงมากเกือบร้อยละ 100

### เอกสารอ้างอิง

1. Srichaikul T, Nimmannitya S. Hematology in dengue and dengue hemorrhagic fever. *Bailliere's Clinical Hematology* 2000;13:261-76.
2. Bokisch VA, Top FH, Jr, Russell PK et al. The potential pathogenic role of complement in dengue hemorrhagic shock syndrome. *New Engl J Med* 1973;289:996-1000.
3. Malasit P, Mongkotsapaya J, Kalayanarooj S, Nimmannitya S. Complement and dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1987;18:316-20.
4. Kurane T, Ennis FA. Immunopathogenesis of dengue virus infections. In: Grubler DJ, Kuno G (eds). *Dengue and Dengue hemorrhagic Fever*, Wallingford, UK: CAB International, 1997:273-90.
5. Kurane I, Innis BL, Nimmannitya S. et al. Human immune response to dengue viruses. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1990;21:658-62.
6. Bhamarapravati N, Tuchinda P, Boonpuknavek V. Pathology of Thai hemorrhagic fever: a study of 100 autopsy cases. *Annals Trop Med Parasit* 1967;61:500-10.
7. La Russa VF, Innis BL. Mechanisms of dengue virus induced bone marrow suppression. *Baillieres Clinical Haematology* 1995;8:249-70.
8. Bierman HR, Nelson ER. Hematodepressive virus disease of Thailand. *Annals of Internal Medicine* 1965;62:867-84.
9. Na Nakorn S, Suingdumrong A, Pootrakul S, Bhamarapravati N. Bone marrow studies in Thai hemorrhagic fever. *Bulletin World Health Organisation* 1996;35:54-5.
10. Nelson ER, Bierman HR, Chulajata R. Hematologic phagocytosis in postmortem bone marrow of dengue hemorrhagic fever. *Am J Med Sci* 1966;252:68-74.
11. Nelson ER, Bierman HR, Chulajata R. Hematologic findings in the 1960 hemorrhagic fever epidemic (dengue in Thailand). *Am J Trop Med Hyg* 1964;13:642-9.
12. Kho LK, Wulur H, Himawan T. Blood and bone marrow in dengue hemorrhagic fever. *Paediatrica Indonesiana* 1972;12:31-9.
13. Lin SF, Liu HW, Chang CS, et al. Hematological aspects of dengue fever. *Kaohsiung J Med Sci* 1989;5:12-6.
14. Nakao S, Lai CJ, Young NS. Dengue virus, a flavivirus, propagates in human bone marrow progenitors and hematopoietic cell lines. *Blood*. 1989;74:1235-40.
15. Murgue B, Cassar O, Guigon M, Chungue E. Dengue virus inhibit human hematopoietic progenitor growth

- in vitro*. *J Infect Disease* 1997;175:1497-501.
16. La Russa VF, Putnak JR, Knight RD. Dengue virus infection of stromal cells in Dexter cultures of human marrow (abstract). *Experimental Hematology* 1991;19:479.
  17. La Russa VF, Cutting MA, Kanshal S, et al. Generation of stromal cell colonies from CD34+ cells (abstract). *Blood* 1993;82:98a.
  18. Maze R, Sherry B, Kwon BS et al. Myelosuppressive effect *in vivo* of purified recombinant murine macrophage inflammatory protein-1 alpha. *J Immun* 1992;149:1001-9.
  19. Oppenheim J, Zacharie C, Kukuaica N, Matsuskinna K. Properties of the novel proinflammatory supergene 'intercrine' cytokine family. *Annual Review of Immunology* 1991;9:617-48.
  20. Dunlop D, Wright E, Lorimore S, et al. Demonstration of stem cell inhibition and myeloprotective effects of SCI/rh MIP 1 $\alpha$  *in vivo*. *Blood* 1992;79:2221-5.
  21. Green S, Vanghn DW, Kalayanarooj S, et al. Early immune activation in acute dengue illness is related to development of plasma leakage and disease severity. *J Infect Disease*. 1999;179:755-62.
  22. Laur F, Murgue B, Deparis X, et al. Plasma levels of tumour necrosis factor alpha and transforming growth factor beta-1 in children with dengue - 2 virus infection in French Polynesia. *Transaction Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 1998;92:654-6.
  23. Avirutnan P, Malasit P, Seliger B, et al. Dengue virus infection of human endothelial cells leads to chemokine production, complement activation and apoptosis. *J Immuno* 1998;161:6338-46.
  24. Raghupathy R, Chaturvedi UC, Al-Sayer H, et al. Elevated levels of IL-8 in Dengue Hemorrhagic fever. *J Med Virol* 1998;56:280-5.
  25. Kurane I, Innis BL, Nimmannitya S, et al. Activation of T lymphocytes in dengue virus infections. High levels of soluble interleukin 2 receptor, soluble CD8, interleukin 2, and interferon -  $\gamma$  in sera of children with dengue. *J Clin Invest* 1991;88:1473-80.
  26. Kurane I, Innis BL, Nimmannitya S, et al. High levels of interferon alpha in the sera of children with dengue virus infection. *Am J Trop Med Hyg* 1993;48:222-9.
  27. Hober D, Poli L, Roblin B, et al. Serum levels of tumour necrosis factor -  $\alpha$  (TNF-2), interleukin 6 (IL-6) and interleukin - 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) in dengue infected patients. *Am J Trop Med Hyg* 1993;48:324-31.
  28. Yadar M, Kamath KR, Iyngkaran N, Sinniah M. Dengue Hemorrhagic fever and dengue shock syndrome : are they tumour necrosis factor - mediated disorders? *FEMS of Microbiology and Immunology (Netherland)* 1991;89:45-50.
  29. Nimmannitya S. Clinical spectrum and management of dengue hemorrhagic fever. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1987;18:392-8.
  30. Memoranda. Pathogenic mechanisms in dengue hemorrhagic fever. Report of an international collaboration study. *Bulletin of World Health Organization* 1973;48:117-33.
  31. Edelman R, Nimmannitya S, Colman RW, et al. Jr. Evaluation of the plasma kinin system in dengue hemorrhagic fever. *J Lab Clin Med* 1975;86:410-21.
  32. Srichaikul T, Punyagupta S, Nitiyanant P, Alkarawong K. Disseminated intravascular coagulation in adults dengue hemorrhagic fever : report of three cases. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1975;6:106-14.
  33. Mitrakul C, Poshyachinda M. Futrakul P, et al. Hemostatic and platelet kinetic studies in dengue hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 1977;26:975-84.
  - 33a Suvatte V, Mahasandana C, Jayavasu J. Platelet function in DHF. Fifteen SEAMEO-TROPMED seminar on Tropical Pediatric Problem in Southeast Asia, November 1975, Bangkok, p 68.
  34. Phanichyakarn P, Israngkura P, Krisarin C, et al. Studies on dengue haemorrhagic fever IV. Fluorescent staining of the immune complexed on platelets. *J Med Assoc Thai* 1977;60:307-11.
  35. Boonpucknavig S, Vattiviroj O, Bunnag C, et al. Demonstration of dengue antibody complexes on the surface of platelets from patients with dengue hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 1979;28:881-4.
  36. Funahara Y, Ogawa K, Nobuya F, Yoshinobu O. Three

- Possible triggers to induce thrombocytopenia in dengue virus infection. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1987;18:351-5.
37. Wang S, HeR, Patarapotikul, J et al. Antibody enhanced binding of dengue - 2 virus to human platelets. *Virology* 1995;213:254-7.
  38. Malasit P, Mongkolsapaya J, Kalayanarooj S, Nimmanitya S. Surface associated complement fragment (C3g) on platelets from patients with dengue infection. *Southeast Asian J Trop Med Public Health (abstract)* 1990;21:705.
  39. Srichaikul T, Nimmanitya S, Sripaisarin T, et al. Platelet Function during the acute phase of dengue hemorrhagic fever. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1989;20:19-25.
  40. Chantharaksri U, Laoharoengpanya N, Malasit P, Innis BL. Time dependent effects of dengue virus on platelets : a cyclooxygenase dependent mechanism. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 1990;21: 706 (abstract).
  41. Krishramuri C, Kalayanarooj S, Cutting MA, et al. Mechanism of hemorrhage in dengue without circulatory collapes. *Am J Trop Med Hyg* 2001;65:840-7
  42. Weiss HJ, Halstead SB. Studies of hemostasis in Thai hemorrhagic fever. *J Pediat* 1965;66:918-26.
  43. Srichaikul T, Nimmanitya S, Artchararit N, et al. Fibrinogen metabolism and disseminated intravascular coagulation in dengue hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 1977;26:525-32.
  44. Isaranggura P, Pongpanich B, Pintadit P, et al. Hemostatic derangement in dengue hemorrhagic fever. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1987;18: 331-9.
  45. Funahara Y, Sumarmo SA, Shirahata A, Dharma R. Dengue hemorrhagic fever characterized by acute disseminated intravascular coagulation with increased vascular permeability. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1987;18:346-50.
  46. Suvatte V, Pongpipat D, Tuchinda S, et al. Studies on serum complement C3 and fibrinogen degradation product in Thai hemorrhagic fever. *J Med Assoc Thai* 1973;56:24-32.
  47. Nimmanitya S, Thisyakorn U, Hemsrichart U. Dengue hemorrhage fever with unusual manifestation. *Southeast Asian J Trop Med Publ Health* 1987;18:398-406.
  48. Nimmanitya S, Thisyakorn U, Wanotayan R. Role of heparin in DSS. The technical meeting on pathogenesis and management of DHF in Southeast Asia. Bangkok, Thailand. April 9-11,1986.
  49. Uttayopas C. Effect of heparin and antiplasmin on platelet level in DHF. *Southeast Asian J Trop Med Publ Health* 1987;18:380-2.
  50. Nimmanitya S. Management of dengue and dengue hemorrhagic fever. In: Thongchareon P, ed. *Monograph on dengue/dengue hemorrhagic fever*. New Delhi: World Health Organisation 1993:55-61.
  51. Chuansumrit A, Tangnararatchaikit K, Lektrakul Y, Pongthanapisith V, et al. Recombinant activated factor VII in controlling life treatening bleeding in dengue shock syndrome ASH 2002, rF VIIa - Related Presentation abs. 3799.