
Alteraciones hepáticas en pacientes con dengue.

Yraima Larreal, Nereida Valero, Jesús Estévez, Ivette Reyes, Mery Maldonado, Luz Marina Espina, Julia Arias, Eddy Meleán, Germán Añez y Ricardo Atencio.

Sección de Virología, Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Apartado 23. Maracaibo 4001-A, Venezuela.
Correo electrónico: yraimalarreal@yahoo.com

Palabras clave: Hígado, dengue, virus, hepatomegalia, transaminasas.

Resumen. La caracterización clínica del Dengue es muy variable debido a las múltiples alteraciones inducidas por el virus en el organismo. Se ha reportado incremento en los niveles de transaminasas similares a los producidos por el virus de Hepatitis en pacientes con Dengue de zonas hiperendémicas de Asia. Los objetivos del trabajo fueron determinar alteraciones en las pruebas de funcionalismo hepático en pacientes con Dengue y relacionar clínica y serológicamente la infección viral. A 62 casos con confirmación serológica para Dengue, se les realizó historia clínica, hematología completa, Tiempo de Protrombina (TP) y Tiempo Parcial de Tromboplastina (TPT), cuantificación de transaminasas (ALT y AST) y bilirrubina en suero. En relación a las características clínicas el 38,7% de los pacientes con Dengue Clásico (DC) y Fiebre Hemorrágica por Dengue (FHD) refirieron dolor abdominal y 2 con FHD presentaron hepatomegalia e ictericia. En los resultados de laboratorio se observó leucopenia (72,5%) en ambas formas de Dengue y en pacientes con FHD, trombocitopenia severa ($<50.000 \times \text{mm}^3$) y TP y TPT alargados en 70,9%, 23,0% y 42,3%, respectivamente. El valor de transaminasas resultó hasta cinco veces más elevado que el valor normal ($p < 0,005$) en 36,8% de los pacientes con DC y en 74,4% con FHD, con predominio de AST en ambos grupos. Los resultados sugieren daño hepático durante el curso del Dengue. Esto permite afirmar que la infección por virus Dengue puede causar disfunción hepática aguda y debe ser considerada en el diagnóstico diferencial con otras infecciones virales con disfunción hepática.

Hepatic alterations in patients with dengue.

Invest Clín 2005; 46(2): 169 - 178

Key words: Dengue, liver, virus, hepatomegaly, transaminases.

Abstract. Clinical features of Dengue are very variable due to multiple alterations induced by the virus in the organism. Increased levels of transaminases similar to those produced by the Hepatitis virus have been reported in patients with Dengue from hiperendemic zones in Asia. The objectives of this study were to determine alterations in the liver tests in patients with Dengue and to relate them to the disease, clinically and serologically. Clinical history, hemathological tests serum transaminases (ALT y AST) and bilirubin assays were performed in 62 patients with clinical and serological diagnosis of Dengue. According to clinical features 38.7% of the patients with classical (CD) and hemorrhagic (DHF) forms of Dengue referred abdominal pain and 2 patients with DHF had ictericia and hepatomegaly. Laboratory test findings showed leucopenia in 72.5% in both forms of Dengue and of patients with DHF severe thrombocytopenia (< 50.000 platelets \times mm³), long PT and PPT in 70.9%, 23.0% and 42.3%, respectively. Transaminase values five fold higher than the normal values ($p < 0.005$) were observed in 36.8% and 74.4% of patients with CD and DHF respectively; AST was predominant in both groups. Our results suggest liver damage during the course of Dengue. A differential diagnosis has to be done between the hepatic involvement of Dengue cases and others viral diseases with hepatic disfunctions.

Recibido: 22-04-2004. Aceptado: 25-11-2004.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas ocupan un lugar importante en el panorama actual de la salud mundial, entre éstas se destaca el Dengue y especialmente sus formas severas la "Fiebre hemorrágica por Dengue" y el "Síndrome de Choque por Dengue" (FHD/SCD) (1).

Cuando se presenta un paciente con cuadro febril, son muchos los diagnósticos diferenciales que se plantean, y es más difícil aún cuando el diagnóstico se inclina hacia las infecciones virales, sobre todo por la similitud clínica entre este tipo de infecciones y las dificultades que se presentan para realizar un diagnóstico de laboratorio confirmatorio.

El Dengue es una infección viral aguda, causada por un miembro de la Familia *Flaviviridae*, Género *Flavivirus*. Se conocen actualmente cuatro serotipos, y el virus es transmitido generalmente por mosquitos del género *Aedes*. La sintomatología clínica aparece súbitamente, caracterizada por fiebre bifásica, cefalea, dolor retroocular, mialgias, artralgias, postración y erupción cutánea (2).

La FHD se caracteriza por aumento de la permeabilidad vascular, hipovolemia y anormalidades en los mecanismos de hemostasia. Puede cursar con petequias, epistaxis, y menos frecuentemente melena, hematemesis, hepatomegalia, derrame pleural, entre muchas otras manifestaciones. Es una enfermedad de tipo multisistémico, y

se conoce que el virus tiene marcado tropismo por los órganos del sistema monocítico-macrofágico, como son médula ósea, bazo, hígado y nódulos linfáticos (3).

Se ha descrito que el virus Dengue puede producir disfunción hepática moderada, incluso casos severos, sobre todo en el continente asiático, con elevación importante de los niveles séricos de transaminasas, bilirrubina y fosfatasa alcalina, llegando incluso a valores similares a los de una hepatitis viral producida por el virus de Hepatitis (4). También se describen casos de daño hepatocelular que puede llegar a etapa irreversible (5). Anatomopatológicamente se describe necrosis focal del hepatocito, cuerpos de Councilman e hinchamiento con necrosis hialina (6). Lin y col. (7) y León (8) reportaron que el virus puede infectar pero no replicarse en las células de Kupffer, éstas sufren apoptosis y son fagocitadas.

El estudio de las alteraciones hepáticas de pacientes infectados con el virus Dengue, tiene especial relevancia en la caracterización clínica de esta enfermedad, ya que con frecuencia se presentan signos y síntomas de disfunción hepática y se plantean otros diagnósticos clínicos y no como parte de un mismo proceso patogénico, además alerta sobre la posible circulación de serotipos del virus que producen cambios en el comportamiento de la enfermedad en un momento y área determinada.

Por lo antes expuesto en esta investigación se planteó hacer un análisis clínico y de laboratorio para determinar y/o verificar alteraciones hepáticas en los pacientes con Dengue y hacer la correlación clínica de la infección viral con las manifestaciones hepáticas producto de la infección.

PACIENTES Y MÉTODOS

Población estudiada

Se seleccionaron pacientes del servicio de Medicina Interna del Hospital General

del Sur "Dr. Pedro Iturbe", del Estado Zulia, Venezuela, que incluyó pacientes a partir de los 12 años, de uno u otro sexo, y que consultaron por clínica compatible con Dengue, durante el periodo septiembre 2001-enero 2002. El total de la población estudiada fue de 76 casos, 31 con diagnóstico clínico de Fiebre por Dengue o Dengue clásico (DC) manejados en forma ambulatoria y 45 pacientes hospitalizados con FHD, clasificados según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (9). Estos pacientes fueron confirmados por serología debido a que al momento de la toma de muestra tenían un promedio de 6 días de evolución y era poco probable el aislamiento viral.

Se tomaron como criterios de exclusión pacientes seronegativos al virus Dengue, aquellos cuyas muestras estuvieran hemolizadas y los que refirieron antecedentes de enfermedad hepática, razones por las cuales del total de pacientes, 14 fueron excluidos. Todos los pacientes dieron su autorización para ser incluidos en el estudio, cuyo proyecto de investigación fue aprobado previamente por el comité de ética del Instituto de Investigaciones Clínicas de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia.

A cada paciente se le realizó historia clínica, se indagó especialmente sobre antecedentes de enfermedad hepática, ingesta de medicamentos y/o alcohol, ocupación y exposición a tóxicos.

Determinaciones hematológicas y serológicas

A cada paciente se le extrajeron 10 mL de sangre completa por punción venosa. 1,5 mL fueron colocados en un tubo de vidrio con EDTA para realizar hematología, a través de un contador de células automático (Coulter); 2,5 mL fueron colocados en un tubo con citrato de sodio al 3,8% en una relación de 9:1 para la determinación de TP y

TPT a través del método de coagulación estándar (10). El resto fue colocado en un tubo de vidrio seco y estéril, fue centrifugado y del suero obtenido se tomó una parte para la determinación de IgM e IgG específicas al virus Dengue, con la técnica inmunoenzimática de fase sólida (ELISA de captura) (11), utilizando el estuche comercial desarrollado por DiagKit C.A., la cual utiliza antígenos de los cuatro serotipos del virus Dengue, y la otra para la determinación de transaminasas y bilirrubina.

La actividad de transaminasas, aspartatoaminotransferasa (AST) y alaninoaminotransferasa (ALT), se determinó cuantitativamente empleando el método colorimétrico con el conjugado comercial de Wiener (Wiener Laboratorios, Argentina), calculando los resultados de la actividad enzimática con curvas de calibración basadas en la absorbancia del cromógeno, usando un espectrofotómetro a 505 nm y considerándose valores normales hasta 12 U/L. La cuantificación de bilirrubina se realizó mediante la técnica de Malloy-Evelyn (12).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron ordenados y analizados estadísticamente con el programa Graph Pad 3.0. Se aplicaron determinaciones de estadística descriptiva, pruebas de asociación de variables cualitativas, t de student y Chi cuadrado con corrección de Yates según fuera el caso, con un límite de significancia de $p < 0,05$.

RESULTADOS

De un total de 62 casos confirmados, 19 (30,64%) correspondieron a DC y 43 (69,36%) a la variante hemorrágica, uno de ellos con SCD.

Los menores de 30 años (82,26%) y el sexo masculino (59,68%) fueron los mayormente afectados. En cuanto a la procedencia, fue mayor en los Municipios urbanos

Maracaibo (47%) y San Francisco (18%), y la ocupación más frecuente fue la de estudiantes (51,61%).

Las manifestaciones clínicas que con mayor frecuencia se presentaron fueron fiebre en el 100% de los casos, cefalea en 95,1% seguido de mialgias y artralgias 80,6%, náuseas/vómitos en un 74,1%. El dolor abdominal fue referido por 38,7% de los pacientes, en su mayoría leve, de localización en epigastrio e hipocondrio derecho, sólo en dos (3,2%) fue posible palpar hepatomegalia y 2 pacientes presentaron leve tinte icterico (Tabla I).

Con respecto a las manifestaciones hemorrágicas del total de casos con FHD, 41,8% presentaron petequias, gingivorragia 46,5% y epistaxis en 18,6%. Se refirió metrorragia en el 25% de las mujeres estudiadas (Tabla II).

Al realizar la determinación de enzimas hepáticas pudo apreciarse que en 34 (54,8%) pacientes se presentó elevación de ambas enzimas (ALT y AST), siendo mayor en los pacientes con FHD (62,7%). El valor de las transaminasas resultó hasta 5 veces más elevado con respecto a su valor normal en 42,10% de los pacientes con DC y en 74,42% con FHD. La elevación enzimática predominante fue la AST ($p < 0,05$), con un valor promedio de 37,8 en DC y 38,5 U/L en FHD, con un total de 74,42% en los grupos analizados (Tabla III).

La bilirrubina resultó normal en el 83,3% de los pacientes, sin predominancia de las fracciones en el grupo donde resultó ligeramente alterada. En 8 (18,6%) pacientes con FHD fue posible la realización de ecografía abdominal reportándose hepatomegalia, engrosamiento de las paredes vesiculares, y en algunos casos (6,9%) ascitis y derrame pleural.

En cuanto a los resultados hematológicos pudo observarse que 48 (77,4%) presentaron leucopenia, sin predominio significativo entre ambos grupos, el 78,2% tuvieron

TABLA I
MANIFESTACIONES CLÍNICAS EN PACIENTES CON DENGUE

Manifestaciones Generales	Dengue Clásico		Fiebre Hemorrágica por Dengue		Total	
	n	%	n	%	n	%
Fiebre	19	100	43	100	62	100
Cefalea	19	100	40	93,0	59	95,1
Fotofobia	13	68,4	18	41,8	31	50,0
Mialgias/artralgias	17	89,4	33	76,7	50	80,6
Rash	14	73,6	21	48,8	35	56,4
Adenopatía	3	15,7	11	25,5	14	22,5
Diarrea	4	21,0	9	20,9	13	20,9
Nauseas/vómitos	15	78,9	31	72,0	46	74,1
Dolor abdominal	12	63,1	12	27,9	24	38,7
Hepatomegalia	-	-	2	4,6	2	3,2
Ictericia	1	5,2	1	2,3	2	3,2

TABLA II
MANIFESTACIONES HEMORRÁGICAS EN PACIENTES CON FIEBRE HEMORRÁGICA POR DENGUE

Signos	n	%
Prueba de Torniquete Positiva	24	55,8
Petequias	18	41,8
Gingivorragia	20	46,5
Epistaxis	8	18,6
Equimosis/Hematomas	6	13,9
Melena	2	4,6
Hematuria	2	4,6
Hem. Subconjuntival	2	4,6
Hematemesis	3	6,9
Metrorragia	3	25,0

inversión de la fórmula leucocitaria con predominio de linfocitos en un promedio de 4,6 días de evolución. En 34,8% de los pacientes se evidenció hemoconcentración al momento de la toma de muestra.

Los pacientes con DC presentaron trombocitopenia leve ($100.000-150.000 \times \text{mm}^3$) en un 73,8%, en FHD se observó

trombocitopenia moderada (50.000 y $100.000 \times \text{mm}^3$) en un 30,25%, severa (20.000 y $50.000 \times \text{mm}^3$) en un 53,46% y muy severa ($< 20.000 \times \text{mm}^3$) en un 16,29%.

La valoración de los tiempos de coagulación en los pacientes con FHD reportó que el TP estuvo alargado en un 53,4% y el

TABLA III
PARÁMETROS DE LABORATORIO ALTERADOS EN PACIENTES CON DENGUE

Parámetros Evaluados	Valor de Referencia	Dengue Clásico			Fiebre Hemorrágica por Dengue		
		n con valor alterado	%	$\bar{X} \pm DE$	n con valor alterado	%	$\bar{X} \pm DE$
ALT (U/L)	< 12	4	21,05	22,7 ± 13,6	20	46,51	21,9 ± 5,1
AST (U/L)	< 12	8	42,10	37,8 ± 23,5	32	74,42*	38,5 ± 20,1
BT (mg/dL)	< 1	-	-	0,8 ± 0,1	7	16,70	1,22 ± 0,4
Contaje Leucocitos (× mm ³)	5.000-10.000	16	83,3	2.900	32	74,1	2.400
Plaquetas (× mm ³)	150.000-400.000	14	73,8	113.000	43	100	57.000
TP alargado (seg)	12 + 2	-	-	-	23	53,4	20,4 ± 4,2
TPT alargado (seg)	25 + 2	-	-	-	34	79,0	48,9 ± 32

*P < 0,05 con respecto a ALT.

TPT en un 79,0% de los pacientes, siendo >3 minutos en un paciente con SCD.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran elevación de las enzimas ALT y AST, referidos como marcadores de enfermedad hepática con predominio citolítico, que aunque inespecíficas (AST también está en músculo cardíaco y esquelético, leucocitos, hematíes, riñón, cerebro, páncreas y pulmón), en conjunto son marcadores altamente sensibles de lesión hepática (12). Del total de pacientes con DC (30,64%) y FHD (69,36%) se observó incremento en 7/19 (36,8%) en pacientes con DC y 27/43 (62,7%) en FHD, con una elevación de hasta 5 veces el valor máximo normal en el 36,84 y 74,42%, respectivamente. Estos resultados concuerdan con lo reportado por diferentes autores (13-15), principalmente del continente asiático donde existe co-circulación de serotipos del virus

Dengue, quienes reportan entre sus hallazgos disfunción hepática moderada; sin embargo el incremento observado en este estudio no fue superior a 10 veces lo normal, como lo reportado en las infecciones hepáticas causadas por el virus de hepatitis (16).

Marianneau y col. (17) destacan las alteraciones hepáticas en pacientes con Dengue como signo de mal pronóstico y característico de enfermedad probablemente fatal, la mayoría de las veces acompañado de encefalopatía. Otros como Kuo y col. (4) concluyen que el virus Dengue puede ocasionar injuria y elevación de enzimas hepáticas similar a lo observado en pacientes con hepatitis viral convencional; no obstante Sirivichayakul y col. (18) lo describe como manifestación inusual del Dengue.

Kuo y col. (4), Wang y col. (13), Nguyen y col. (14), Lum y col. (19) y Teichmann y col. (20) describen elevación importante de ambas enzimas en pacientes con Dengue, sobre todo de AST, alcanzando niveles máximos aproximadamente al noveno

día del inicio de los síntomas con disminución a lo normal hacía la segunda o tercera semana del inicio de la enfermedad. En este estudio el incremento de la AST fue significativamente mayor y se descarta la producción extrahepática como única fuente de elevación, porque la misma no fue una elevación aislada sino en conjunto con la ALT. No obstante se describe que en las infecciones hepáticas de tipo viral, el incremento es a predominio de ALT (3, 16, 21).

La AST también se eleva en muchas otras enfermedades, se ha descrito en miocardiopatías de pacientes con SCD (3), también en miopatías inflamatorias inespecíficas, descrita para otras infecciones virales (16), pero no reportada aún en infecciones por Dengue. Otro aspecto evaluado fue la posibilidad de Hepatitis tóxica en estos pacientes, la mayoría de los cuales solo refirió como antecedente pertinente, la ingesta de acetaminofén con la enfermedad actual, sin embargo nunca fue mayor de 10 g diarios, que es la dosis relacionada con toxicidad y necrosis hepática (16).

El estudio de la posibilidad de una coinfección o sobreinfección con otros virus hepatotropos no fue posible; sin embargo los datos clínico-epidemiológicos y la confirmación serológica específica para el virus dengue sugieren que las alteraciones hepáticas aquí encontradas forman parte de los trastornos fisiopatológicos del Dengue.

Los niveles de bilirrubina sérica resultaron dentro del rango de la normalidad en un 83,3% siendo una elevación muy poco significativa en el resto de los pacientes, lo que sugiere que la fase de conjugación y/o excreción de la bilirrubina no es afectada en forma importante; no obstante Wahid y col. (21) reportan hiperbilirrubinemia significativa en 12% de los pacientes con FHD y 8% con DC. Fosfatasa alcalina y gamma-glutamiltanspeptidasa, aunque resultaron alteradas en otros estudios similares, no fueron consideradas en el presente estudio

por ser principalmente indicadores de obstrucción del sistema biliar y hepatopatías alcohólicas (4, 21).

Desde el punto de vista anatomopatológico se ha descrito necrosis hepática mediozonal en brotes de Dengue 3, en Indonesia y Tailandia (2, 6), lo cual para algunos autores (6, 22) es común e indistinguible de los cambios patológicos producidos por el virus de la fiebre amarilla. La presencia de cuerpos de Councilman es un hallazgo común, degeneración grasa, hepatocitos apoptóticos, necrosis hialina de las células de Kupffer e inflamación portal también han sido descritos (6, 23, 24), incluso calcificaciones en pacientes con injuria hepática causada por virus Dengue (5).

Las manifestaciones clínicas predominantes fueron similares a las encontradas en otras investigaciones reportadas por González y col. (25), Teruel (23) y Martínez (3), sin embargo, la hepatomegalia por evaluación semiológica estuvo presente en menos casos (3,2%) que los reportados por otros autores (25-30), quienes lo encontraron hasta en un 83,8% y lo destacan como signo de mal pronóstico. Gubler (22) lo describe como signo común pero no constante.

En los pacientes a quienes fue posible la realización de ecograma abdominal (19,32%) se encontró, hepatomegalia, engrosamiento de las paredes vesiculares, ascitis y derrame pleural, similar a lo descrito por Setiawan y col. (27) y Palacios y col. (31). Por otra parte, no se ha encontrado relación entre la hepatomegalia clínica y los hallazgos anatomopatológicos de hígado, por lo que se considera que el médico no siempre puede tener un dato semiológico de calidad respecto al tamaño del hígado, pues muchas veces la serositis y el dolor abdominal lo impide (3).

La ictericia (3,2%) también fue un hallazgo inusual en el presente estudio al igual que la coluria y acolia, datos que no

fueron referidos por los pacientes, y que se corresponde con los resultados de bilirrubina sérica encontrados y lo descrito por Kuo y col. (4) y Valle y col. (26).

Sólo el 34,8% de los pacientes con FHD/SCD presentaron hemoconcentración para el momento de la toma de muestra, no obstante casi la totalidad de los pacientes habían recibido hidratación parenteral antes de la toma de muestra, lo cual modifica este parámetro, y no fue posible en este estudio determinar proteínas sericas ni demostrar serositis en todos los pacientes.

Los pacientes con FHD presentaron trombocitopenia en diferentes grados, siendo muy severa ($< 20.000 \times \text{mm}^3$) en un 16,29% de los pacientes. Algunos autores explican entre las teorías que ésta no parece determinada por disminución en la producción sino por aumento en la destrucción periférica, describen el posible efecto directo del virus sobre el megacariocito, el secuestro esplénico, y probablemente por mecanismos inmunológicos, donde se producen anticuerpos antiplaquetarios (3, 7, 26, 32).

La valoración de los tiempos de coagulación, ha sido comentada por diferentes autores y la mayoría de ellos destacan alargamiento del TP; sin embargo, en este estudio a pesar de que éste se observó alargado en un 53,4% de los pacientes, el TPT resultó mayormente alterado, esto podría estar asociado principalmente a déficit de uno o más factores de la coagulación, principalmente el TP por implicación de factores Vitamina K dependientes o a la presencia de un inhibidor de un factor coagulante plasmático, probablemente originado por lesión endotelial, descrita en pacientes con Dengue, y que activaría la vía extrínseca de la coagulación, que sería la explicación de alargamiento del Tiempo de Trombina (TT), disminución de fibrinógeno e incremento de los productos de degradación de la fibrina, también descrito en estos pacientes (23, 25, 32).

Los resultados obtenidos evidencian un grado leve a moderado de afectación hepática, con signos clínicos poco evidentes, pero con parámetros de laboratorio que reflejan la injuria hepática producida por el virus, y que dada la diversidad y variaciones clínicas entre los pacientes podría sugerirnos una relación estrecha entre las alteraciones hepáticas encontradas alertarnos sobre posible desplazamiento de cepas autóctonas por cepas de origen asiático, asociadas con mayor severidad de la enfermedad (33), y con la entrada del serotipo DEN-3 a nuestro país demostrada en el año 2001, que en conjunto con DEN-4 eran los serotipos circulantes para el momento del estudio (34); similar a lo descrito por Lawn y col. (35) y Murgue y col. (28), quienes reportan alteraciones hepáticas en formas severas de la enfermedad durante una epidemia de DEN-3 en Asia, región donde más se ha descrito este tipo de caracterización clínica, refiriéndose como una hepatitis anictérica en la mayoría de los casos y resultando más frecuente en los pacientes con FHD, por lo que se recomienda continuar las investigaciones sobre el papel fundamental del hepatocito en la patogenia de la enfermedad, especialmente de las células fagocitarias de Kupffer.

Los resultados de este estudio resaltan también la necesidad del aislamiento y la identificación de los diferentes serotipos del virus que conformaría la verdadera vigilancia virológica, que unida con la vigilancia epidemiológica, clínica, serológica y entomológica sería la clave para el control de esta enfermedad, cada vez con mayor afectación multisistémica (36).

AGRADECIMIENTO

A los pacientes que gentilmente colaboraron para la realización de este trabajo. A los Servicios de Emergencia, Laboratorio, Historias Médicas y Medicina Interna del

Hospital General del Sur "Dr. Pedro Iturbe", del Estado Zulia, Venezuela.

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) y al Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT) por el financiamiento otorgado.

REFERENCIAS

1. **Guzmán M, Kouri G, Pelegrino J.** Enfermedades virales emergentes. *Rev Cubana Med Trop* 2000; 53(1):5-15.
2. **Beneson A.** Manual para el control de las enfermedades transmisibles. Decimoquinta Edición. Publicación científica 564 OPS; 1997, p 541-549.
3. **Martínez E.** Dengue y dengue hemorrágico. Primera Edición. Editorial de la Universidad Nacional de Quilmes. 1998; p 15-48.
4. **Kuo CH, Tai D, Chang-Chien CS, Lan CK, Chiou SS, Liaw YF.** Liver biochemical test and dengue fever. *Am J Trop Med Hyg* 1992; 47(3):265-270.
5. **Fabre A, Couvelard A, Degott C, Lagorce C, Bruneel F, Bouvet E, Vachon A.** Dengue virus induced hepatitis with chronic calcific changes. *Gut* 2001; 49:864-865.
6. **Huerre MR, Lan NT, Marianneau P, Hue NB, Khun H, Hung NT, Khen NT, Drouet MT, Huong VT, Ha DQ, Buisson Y, Deubel V.** Liver histopathology and biological correlates in five cases of fatal dengue fever in Vietnamese children. *Virchows Arch* 2001; 438(2):107-115.
7. **Lin YL, Liu CC, Chuang JI, Lei HY, Yeh TM, Lin YZ, Huang YH, Liu HS.** Involvement of oxidative stress, NF-IL-6, and RANTES expression in dengue-2- virus-infected human liver cells. *Virology* 2000; 276(1):114-126.
8. **Leon R.** The emperor's new clothes revisited, or reflections on the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 1977; 26(3):337-343.
9. **Organización Panamericana de la Salud.** Dengue y Dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control. Publicación científica 548 OPS; 1995, p 9-15.
10. **Biggs R, Douglas AS.** The thromboplastin and the prothrombin generation test. *J Clin Pathol Hematol* 1953; 106-109.
11. **Kuno G, Gomez Y, Gubler D.** An ELISA procedure for the diagnosis of dengue infection. *J Virol Methods* 1991; 33:1-103
12. **Kaplan-Pesce.** Teoría, análisis y correlación. Química Clínica. Quinta Edición. Editorial Médica Panamericana; 1992, p 1283-1473.
13. **Wang LY, Chang WY, Lu SN, Chen TP.** Sequential changes of serum transaminase and abdominal sonography in patients with suspected dengue fever. *Gaoxiong Yi Xue Za Zhi* 1990; 6(9):483-489.
14. **Nguyen TY, Nguyen TH, Tieu NT.** The impact of dengue haemorrhagic fever on liver function. *Res Virol* 1997; 148(4):273-277.
15. **Pancharoen C, Rungsarannont A, Thisyakorn U.** Hepatic dysfunction in dengue patients with various severity. *J Med Assoc Thai* 2002; 85(1):298-301.
16. **Farreras R.** Medicina Interna. Hepatología. Decimo cuarta Edición, 1999; p 267-358.
17. **Marianneau PH, Steffan A, Royer C, Drouet MT, Jaeck D, Kirn A, Deubel V.** Infection of primary cultures of human Kupffer cells by dengue virus: no viral progeny synthesis, but cytokine production is evident. *J Virol* 1999; 73(6): 5201-5206.
18. **Sirivichayakul C, Sabcharoen A, Chantavanich P, Pengsa K, Chokejindachai W, Prarinyanuphar V.** Dengue infection with unusual manifestations: a case report. *J Med Assoc Thai* 2000; 83(3):325-329.
19. **Lum LC, Lam SK, George R, Devi S.** Fulminant hepatitis in dengue infection. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1993; 24(3):467-471.
20. **Teichmann D, Gobels K, Niedrig M, Grobusch MP.** Dengue virus infection in travellers returning to Berlin, Germany: Clinical, laboratory, and diagnostic aspects. *Acta Trop* 2004; 90(1):87-95.
21. **Wahid SF, Sanusi S, Sawawi MM, Ali RA.** A comparison of the pattern of liver involvement in dengue hemorrhagic fever with classic dengue fever. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2000; 31(2): 259-263.

22. **Gubler D.** Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11(3):480-496.
23. **Teruel E.** Dengue. Revisión. *Invest Clin* 1991; 32(4): 201-217.
24. **Couvelard A, Marianneau P, Bedel C, Droue MT, Vachon F, Henin D, Deuvel V.** Report of a fatal case of dengue infection with hepatitis: demonstration of dengue antigens in hepatocytes and liver apoptosis. *Hum Pathol* 1999; 30(9): 1106-1110.
25. **González M, Vidal D, Cepero J, Lashley M.** Dengue hemorrágico. Estudio clínico de 200 pacientes. *Rev Cubana Med Trop* 1999; 38(1):13-18.
26. **Valle S, Piñera M, Guash F.** Hepatitis reactiva por virus del dengue hemorrágico. *Rev Cubana Med Trop* 2001; 53(1):28-31.
27. **Setiawan MW, Samsi TK, Wulur H, Sugianto D, Pool TN.** Dengue haemorrhagic fever: ultrasound as an aid to predict the severity of the disease. *Pediatric Radiol* 1998; 28(1):1-4.
28. **Murgue B, Deparis X, Chungue E, Cassar O, Roche C.** Dengue: an evaluation of dengue severity in French Polynesia based on an analysis of 403 laboratory- confirmed cases. *Trop Med Int Health* 1999; 4(11):765-773.
29. **Chairulfatah A, Setiabudi D, Ridad A, Colebunders R.** Clinical manifestations of dengue haemorrhagic fever in children in Bandung, Indonesia. *Ann Soc Belg Med Trop* 1995; 75(4): 291-295.
30. **Nguyen TH, Lei HY, Nguyen TL, Lin YS, Huang KJ, Le BL, Lin CF, Yeh TM, Do QH, Vu TQ, Chen LC, Huang JH, Lam TM, Liu CC, Halstead SB.** Dengue hemorrhagic fever in infants: a study of clinical and cytokine profiles. *J Infect Dis* 2004; 189(2):221-232.
31. **Palacios H, Vargas M, Aguirre T.** Dengue hemorrágico en Dengue primario. *Rev Cubana Med Trop* 2001; 53(1):59-62.
32. **Lei HY, Yeh TM, Liu HS, Lin YS, Chen SC, Liu CC.** Immunopathogenesis of dengue virus infection. *J Biomed Sci* 2001; 8(5):377-388.
33. **Salas R, Tovar D, Barreto A, Miller E, Leitmeyer K, Rico R.** Serotipos y Genotipos de virus dengue circulantes en Venezuela, 1990-1997. *Acta Cient Venez* 1998; 49(1):33-37.
34. **Valero N, Fuentes B, Larreal Y, Añez F, Maldonado M, Espina L, Meleán E, Reyes I, Luzardo M.** Introducción del Virus Dengue 3 en el Estado Zulia y sus implicaciones. En: Libro de resúmenes de Posters de la XXVIII Jornadas Venezolanas de Microbiología. 2002 Nov 7-9; Barquisimeto. Lara, Venezuela 2002; p.54.
35. **Lawn SD, Tilley R, Lloyd G, Finlayson C, Tolley H, Newman P, Rice P, Harrison TS.** Dengue hemorrhagic fever with fulminant hepatic failure in an immigrant returning to Bangladesh. *Clin Infect Dis* 2003; 37(1):1-4.
36. **Gubler D.** Vigilancia activa del Dengue y de la fiebre hemorrágica del Dengue. *Bol of Sanit Panam* 1989; 107(1):3-8.