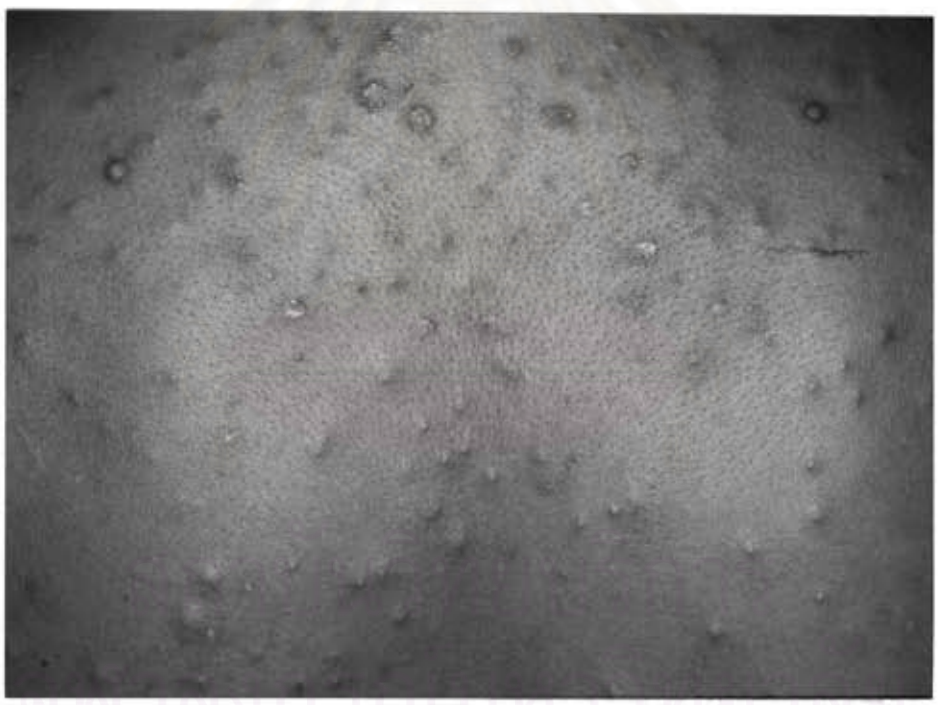
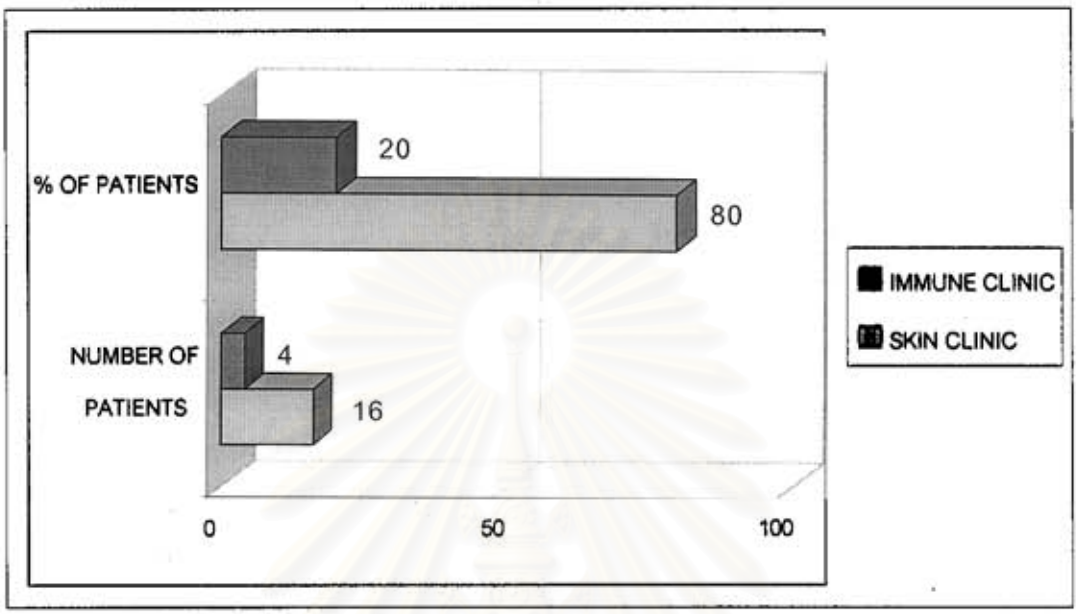
บทที่ 5

ผลการวิจัย

ผู้ป่วยติดเชื้อ HIV ร่วมกับผื่น PPE ที่เข้าร่วมในการศึกษานี้มีทั้งหมด 20 ราย เป็นผู้ป่วยที่เข้ามารับการรักษาที่แผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ตั้งแต่เดือน ธันวาคม 2539 ถึง มีนาคม 2540 โดยผู้ป่วยร้อยละ 80 ได้เข้ามารับการรักษาที่ห้องตรวจโรคผิวหนังด้วยปัญหาผื่นผิวหนัง ส่วนผู้ป่วยที่เหลืออีกร้อยละ 20 ได้รับการส่งต่อจากห้องตรวจคลินิคโรคเอดส์ (ภาพที่ 1-2)



ภาพที่ 1 ภาพผู้ป่วยเอดส์ที่เป็นผื่น PPE



ภาพที่ 2 ภาพแผนภูมิแท่งแสดงแหล่งที่มาของผู้ป่วย

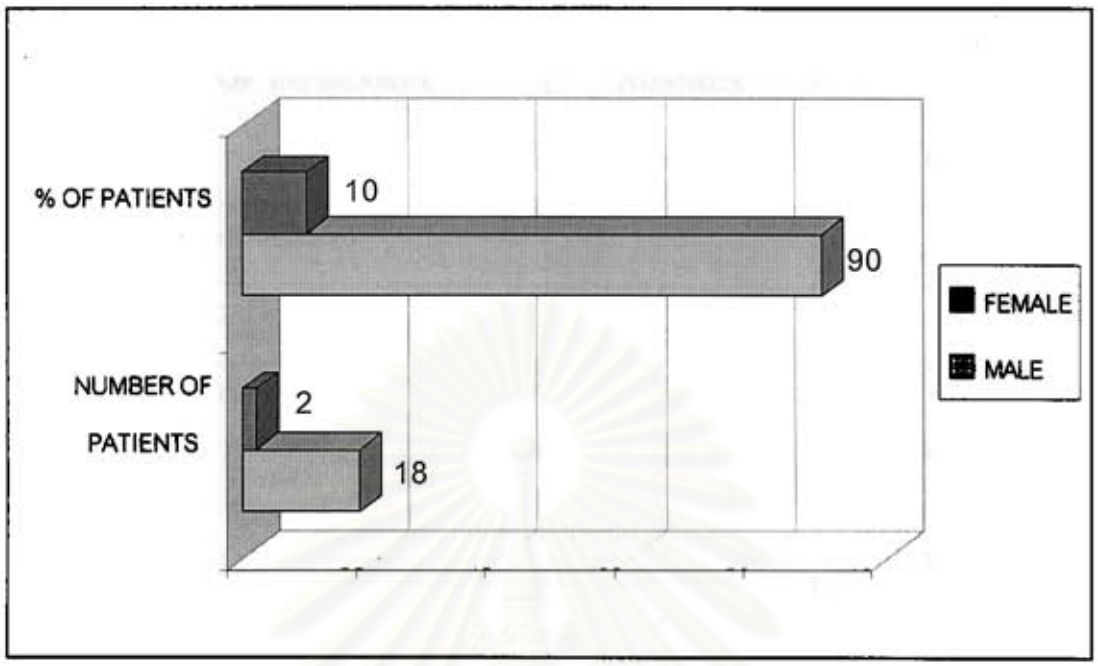
โดยพบว่า ผื่น PPE เป็นอาการนำที่ทำให้ผู้ป่วยมาพบแพทย์โดยไม่ทราบมาก่อนว่าตนเองติดเชื้อ HIV ถึงร้อยละ 40 (จำนวน 8 ราย) ซึ่งในจำนวนนี้ ผู้ป่วย 1 ราย มีผื่น PPE เป็นอาการแรกและอาการเดียวที่ปรากฏในผู้ป่วยขณะนั้น ส่วนอีก 7 ราย มีอาการแสดงอื่นที่ตรวจพบร่วมกับผื่น PPE ได้แก่ การติดเชื้อราแคนดิด้าในเยื่อบุช่องปาก (oral candidiasis) , ผื่น Oral Hairy Leukoplakia (OHL) ที่ลิ้น และการติดเชื้อ Herpes Zoster Virus ผู้ป่วยส่วนใหญ่ (ร้อยละ 60) ในกลุ่มศึกษานี้มีอาการแสดงอื่นนำมาก่อนผื่น PPE และทราบอยู่แล้วว่าตนเองติดเชื้อ HIV

ประวัติส่วนตัวและประวัติการเจ็บป่วยของผู้ป่วย

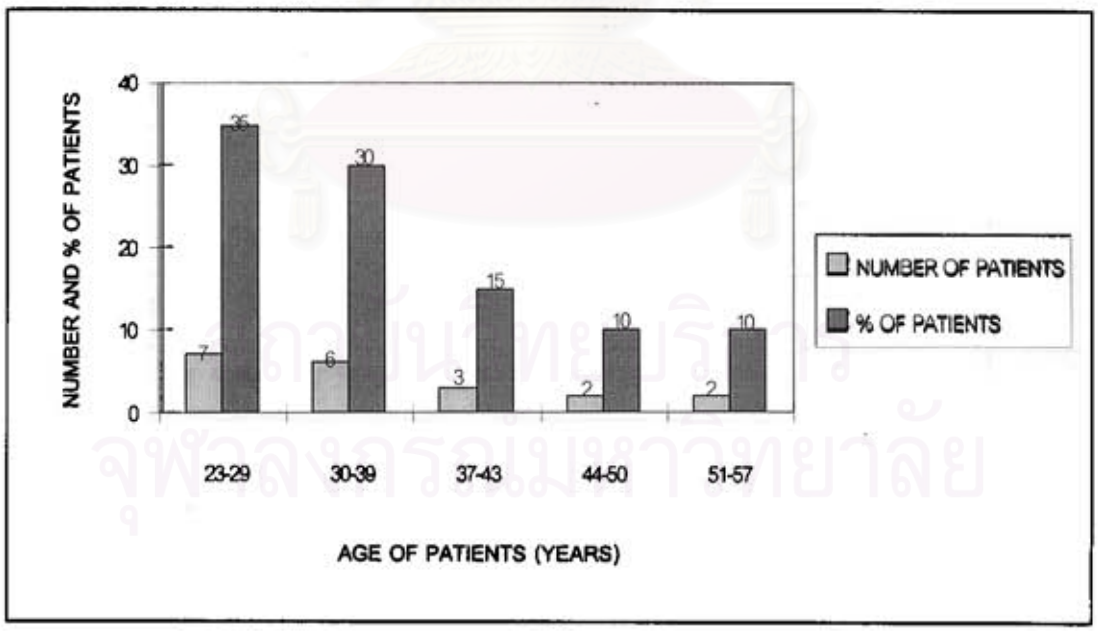
เพศ	เพศชาย : เพศหญิง = 9 : 1
อายุ	23 - 57 ปี (มัธยฐาน = 32 ปี)
ประวัติเพศสัมพันธ์	รักต่างเพศ : รักร่วมเพศ = 95 % : 5 %
ปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อ HIV	ทางเพศสัมพันธ์ = 100 %
CD 4 count	11 - 304 เซลล์ / ม.ม.^{3} (ค่ามัธยฐาน = 29 เซลล์/ม.ม.^{3})
CDC staging of HIV	A3 = 5 % , B2 = 5 % , B3 = 45 % , C3 = 45 %

ตารางที่ 1 ตารางแสดงลักษณะสำคัญของผู้ป่วย

จากผู้ป่วยทั้งหมด 20 รายที่เข้าร่วมในการศึกษานี้ร้อยละ 90 ของผู้ป่วยทั้งหมดเป็นผู้ป่วยเพศชาย มีผู้ป่วยเพศหญิงเพียงร้อยละ 10 เท่านั้น (ภาพที่ 3) ช่วงอายุของผู้ป่วยเริ่มตั้งแต่ 23 ถึง 57 ปี อายุเฉลี่ย 32.25 ปี ค่ามัธยฐานของอายุ 32 ปี (ภาพที่ 4) ผู้ป่วยทุกรายมีเชื้อชาติและสัญชาติไทย การติดต่อทางเพศสัมพันธ์กับเพศตรงข้าม (heterosexual transmission) เป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญใน ผู้ป่วยกลุ่มนี้ถึงร้อยละ 95 ผู้ป่วยที่เหลืออีกร้อยละ 5 มีปัจจัยเสี่ยงคือ เป็นรักร่วมเพศ (homosexual transmission) ไม่มีผู้ติดยาเสพติดแบบฉีดยาเข้าเส้นเลือด (intravenous drug users) หรือผู้มีประวัติได้รับเลือดในกลุ่มศึกษานี้เลย (ตารางที่ 1) พบ AIDS - defining clinical conditions ได้แก่ วัณโรคปอด , เยื่อหุ้มสมองอักเสบจากเชื้อวัณโรค , เยื่อหุ้มสมองอักเสบจากเชื้อ Crytococcus และปอดอักเสบจากเชื้อ *Pneumocystis carinii* ในผู้ป่วยเพียงร้อยละ 40 เท่านั้น แต่จากผลการตรวจระดับ CD4+ T - cell count ในกระแสเลือด ผู้ป่วยจำนวน 19 ราย จากทั้งหมด 20 ราย มีระดับ CD4+ T-cell count ในกระแสเลือดต่ำกว่า 200 เซลล์ ต่อ ม.ม.^{3} แสดงว่าร้อยละ 95 ของผู้ป่วยในการศึกษานี้ทั้งหมดจัดอยู่ในกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นโรคเอดส์เต็มขั้น (ตารางที่ 2 และภาพที่ 5) ผู้ป่วยส่วนใหญ่ในกลุ่มศึกษานี้ ไม่เคยได้รับการรักษาใด ๆ มาก่อน มีเพียง 4 รายเท่านั้นที่เคยได้รับยารักษาโรคอื่นมาก่อน ได้แก่ ยาต้านวัณโรค (ethambutol , rifampicin , pyrazinamide) , ยาต้านเชื้อรา (sporal , difflucan) และ ยาอื่น ๆ (วิตามินบีรวม) ซึ่งยาเหล่านี้ไม่ได้เป็นยาต้านเชื้อไวรัส (Anti - retroviral drug) (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 3 ภาพแผนภูมิแท่งแสดงเพศของผู้ป่วย



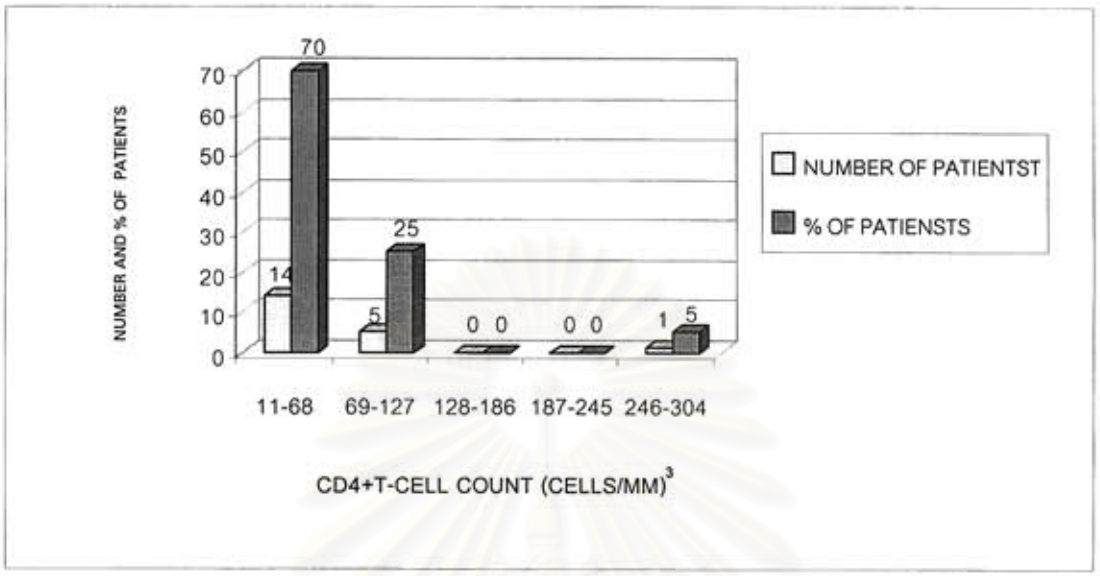
ภาพที่ 4 ภาพแผนภูมิแท่งแสดงอายุของผู้ป่วย

ROUTE OF INFECTION	NUMBER OF PATIENTS	% OF PATIENTS
HOMOSEXUAL	1	10
HETEROSEXUAL	19	90
INTRAVENOUS DRUG USERS	0	0
BLOOD TRANSFUSION	0	0
TOTAL	**20**	**100**

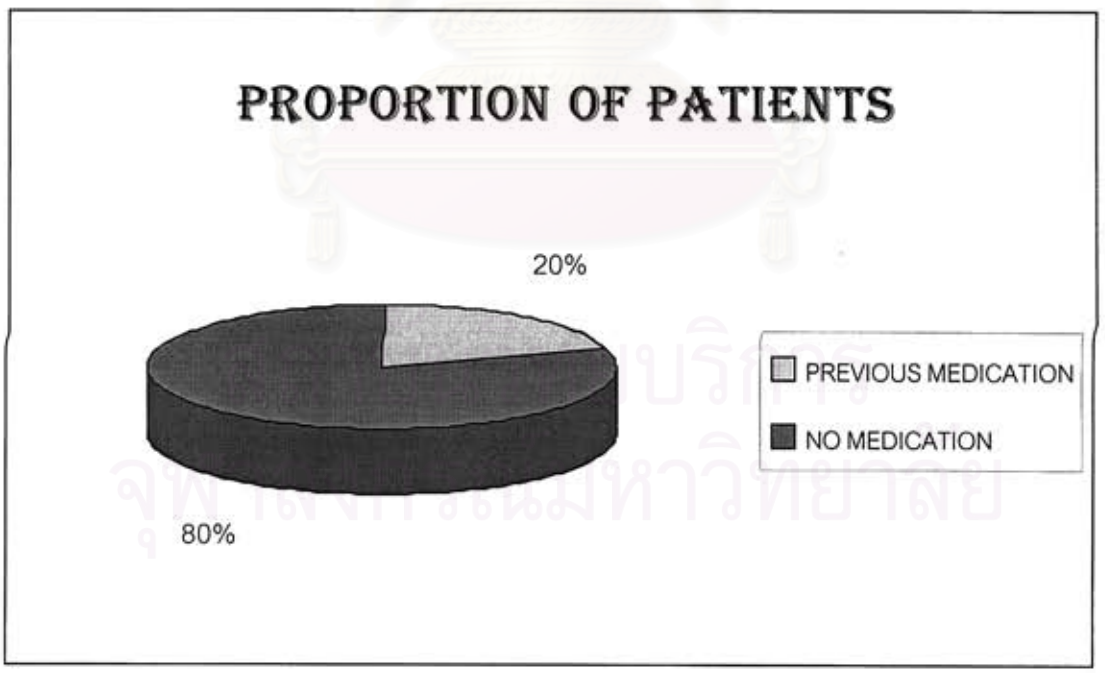
ตารางที่ 2 ตารางแสดงปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อ HIV ในกลุ่มผู้ป่วย

CLINICAL FINDINGS	NUMBER OF PATIENTS	% OF PATIENTS
PERSISTENT GENERALIZED LYMPHADENOPATHY	15	75
ORAL CANDIDIASIS	14	70
ORAL HAIRY LEUKOPLAKIA	16	80
HERPES ZOSTER VIRUS INFECTION	5	25
M. TUBERCULOSIS INFECTION	6	30
PNEUMCYSTIS CARINII PNEUMONIA	2	10
CRYPTOCOSIS (EXTRAPULMONARY)	3	15

ตารางที่ 3 ตารางแสดงอาการแสดงทางคลินิกที่พบร่วมในกลุ่มผู้ป่วย



ภาพที่ 5 กราฟแสดงระดับ CD 4+ T - cell count ในกระแสเลือดของผู้ป่วย

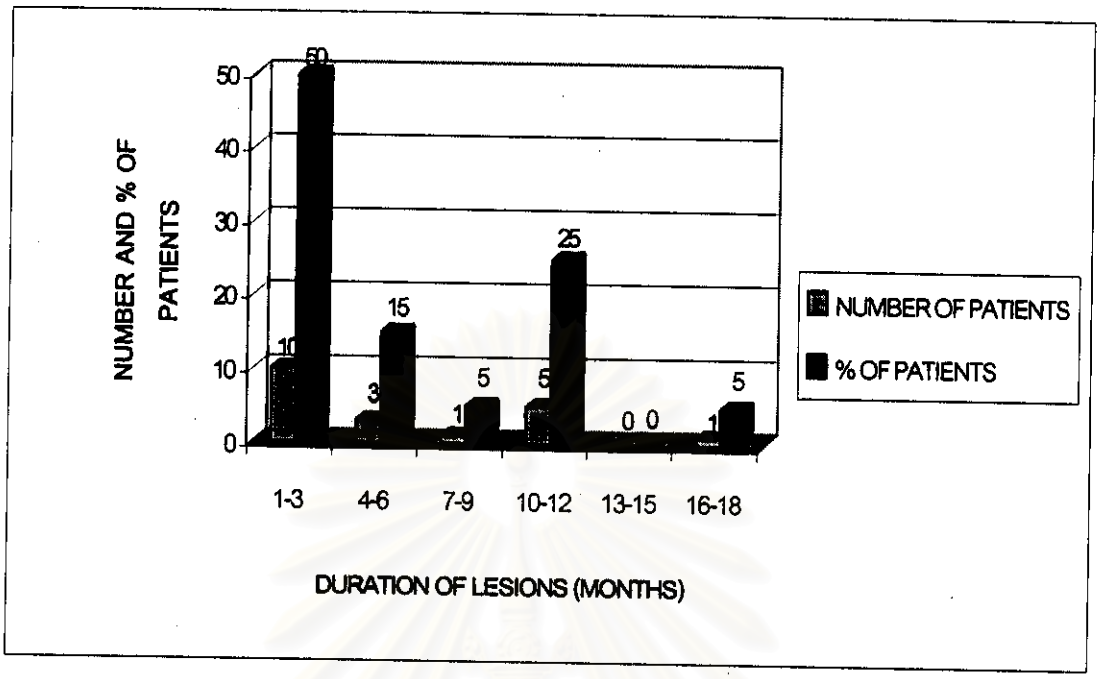


ภาพที่ 6 แผนภาพวงกลมแสดงสัดส่วนของผู้ป่วยที่ไม่เคยได้รับการรักษาใด ๆ มาก่อน และผู้ป่วยที่ได้รับยาบางชนิดอยู่

รายละเอียดของผื่น PPE

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่าร้อยละ 40 ของผู้ป่วยในกลุ่มศึกษานี้มีผื่น PPE เป็นอาการนำที่ทำให้ผู้ป่วยมาพบแพทย์โดยไม่ทราบมาก่อนว่าตนเองติดเชื้อ HIV ซึ่งในจำนวนผู้ป่วย 1 ราย มีผื่น PPE เป็นอาการแรกและอาการเดียวที่ปรากฏในผู้ป่วยขณะนั้น ลักษณะผื่นแต่ละผื่นที่พบ ในผู้ป่วยรายเดียวกันนั้นแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับอายุของผื่นนั้น ๆ ผื่น PPE ชนิดผื่นใหม่มักเป็นตุ่มนูน , สีแดงสด , มีอาการคันรุนแรง (multiple , discrete , brightly erythematous , pruritic papules) ส่วนผื่นเก่าจะมีสีคล้ำกว่า และมักมีรอยเการ่วมด้วย อาการคันทุเลาลง อาจพบเป็นตุ่มนูนขนาดใหญ่กว่าที่พบในผื่นใหม่ได้ (multiple , discrete , excoriated , hyperpigmented papules or nodules) ระยะเวลาของการเกิดผื่น PPE ก่อนที่ผู้ป่วยจะเข้าร่วมในการศึกษานี้แตกต่างกันไปตั้งแต่ 1 ถึง 18 เดือน ค่ามัธยฐานของข้อมูล เท่ากับ 3.5 เดือน (ภาพที่ 7) ร้อยละ 55 ของกลุ่มผู้ป่วยมีอาการคันหลังจากที่มีผื่นผิวหนังแล้ว ในขณะที่ร้อยละ 35 มีอาการคันก่อนเกิดผื่น และผู้ป่วยส่วนน้อย (ร้อยละ 10) มีอาการคันพร้อมกับการเกิดผื่น PPE (ตารางที่ 3) ระดับความรุนแรงของอาการคันจากผื่น PPE จัดอยู่ในระดับรุนแรงปานกลางร้อยละ 35 และรุนแรงมากร้อยละ 55 มีผู้ป่วยเพียงร้อยละ 10 เท่านั้นที่มีอาการคันไม่รุนแรง (ภาพที่ 8) ผู้ป่วยร้อยละ 70 มีผื่น PPE ซึ่งอยู่ในระดับที่มีความรุนแรงมาก ตามเกณฑ์ที่ได้ตั้งไว้ รองลงมาร้อยละ 25 มีผื่นซึ่งมีความรุนแรงปานกลาง และเพียงร้อยละ 5 เท่านั้น ที่มีผื่นซึ่งมีความรุนแรงน้อย (ภาพที่ 9 และ 10) การกระจายของผื่นส่วนใหญ่พบบริเวณ แขน-ขา ด้านนอก (ร้อยละ 95) รองลงมาคือ แขน-ขาด้านใน , ลำตัวด้านหลัง และด้านหน้า , ศีรษะและลำคอ ตามลำดับ ไม่พบผื่นในเยื่อบุของผู้ป่วยในการศึกษานั้นเลย (ภาพที่ 11)

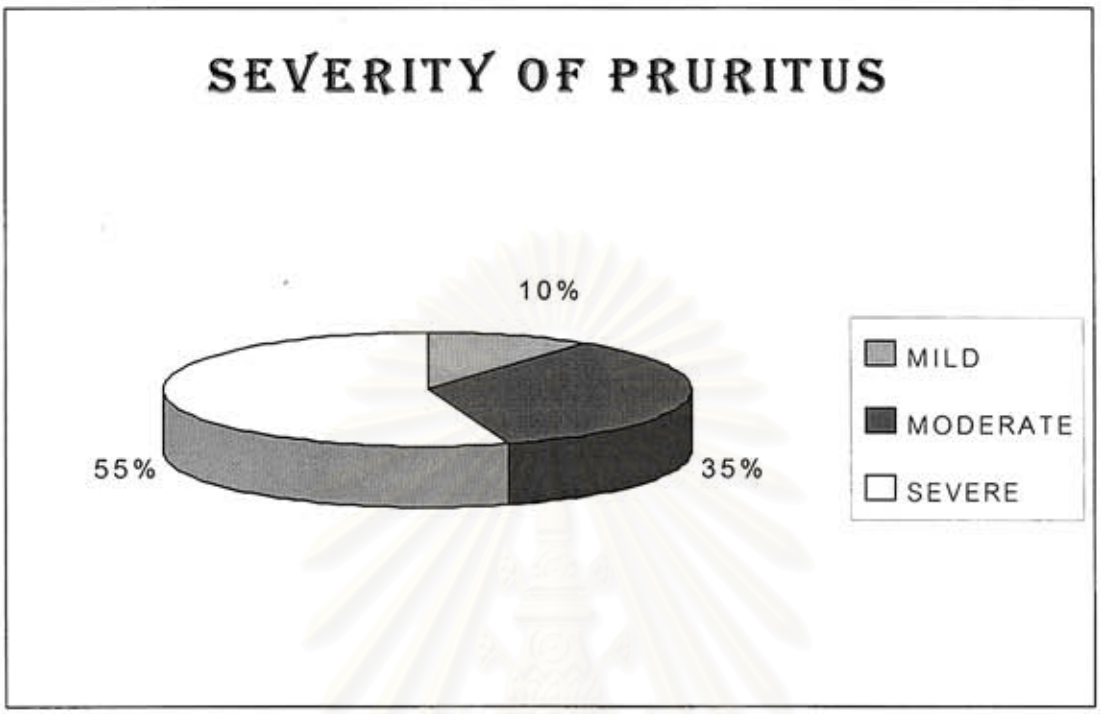
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



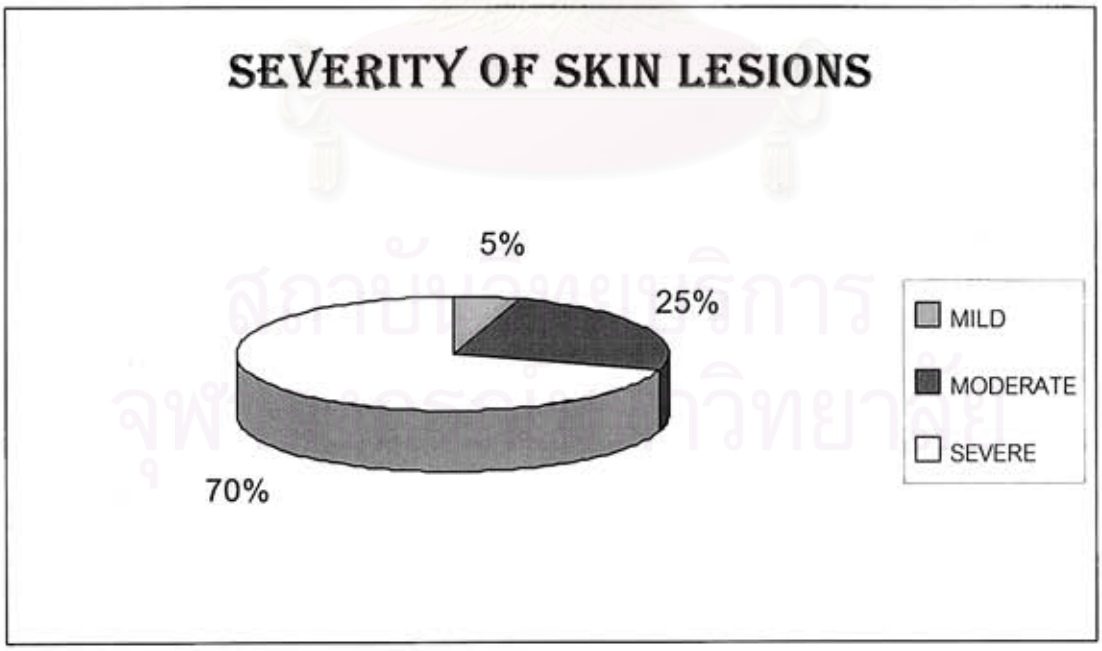
ภาพที่ 7 แผนภูมิแท่งแสดงระยะเวลาของการเกิดผื่นก่อนเข้าร่วมการวิจัย

ONSET OF PRURITUS	NUMBER OF PATIENTS	% OF PATIENTS
BEFORE SKIN LESIONS	7	35
AFTER SKIN LESIONS	11	55
AT THE SAME TIME AS SKIN LESIONS	2	10
TOTAL	**20**	**100**

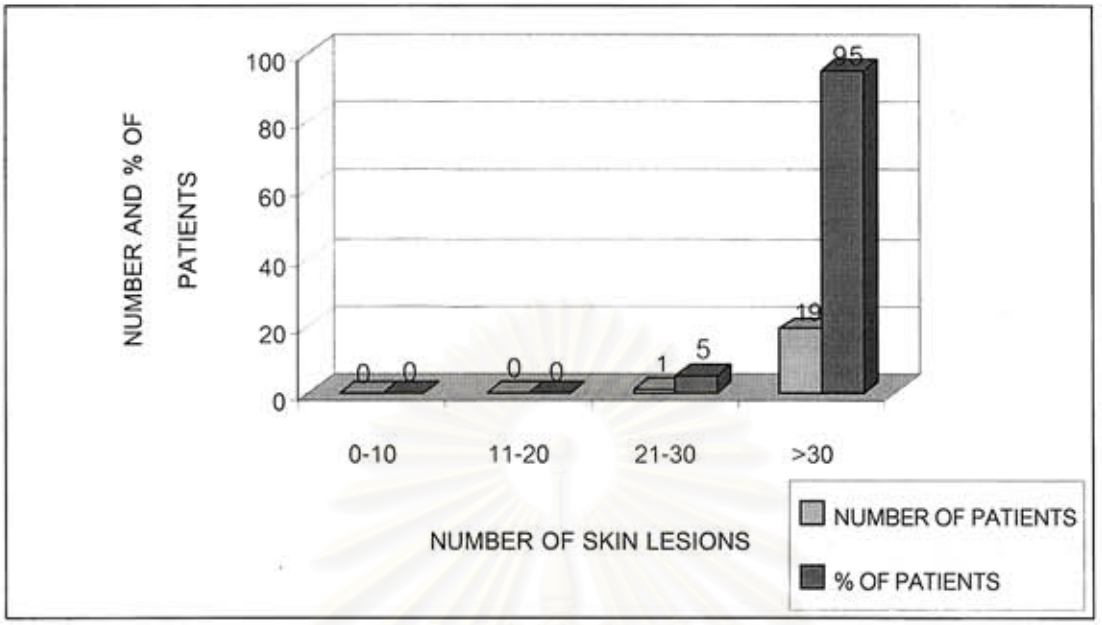
ตารางที่ 4 ตารางแสดงระยะเวลาของการเกิดอาการคัน



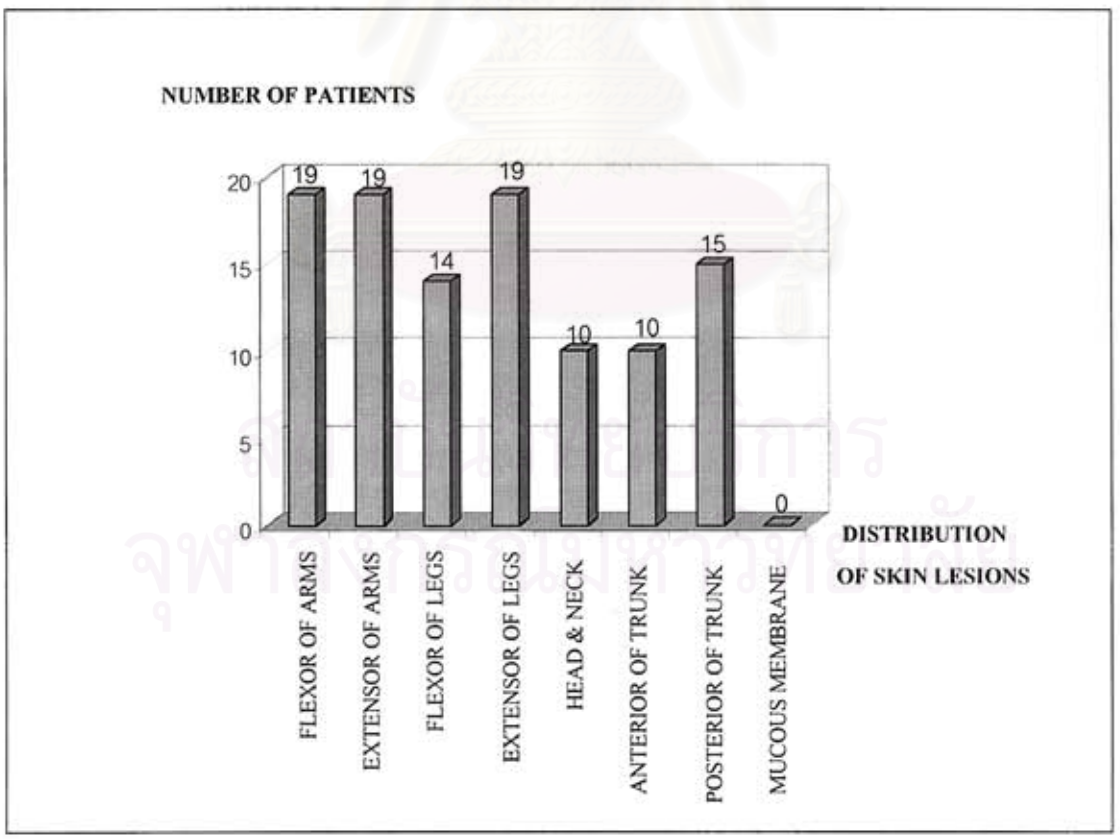
ภาพที่ 8 แผนภูมิวงกลมแสดงความรุนแรงของอาการคันของผื่น PPE



ภาพที่ 9 แผนภูมิวงกลมแสดงระดับความรุนแรงของผื่น PPE



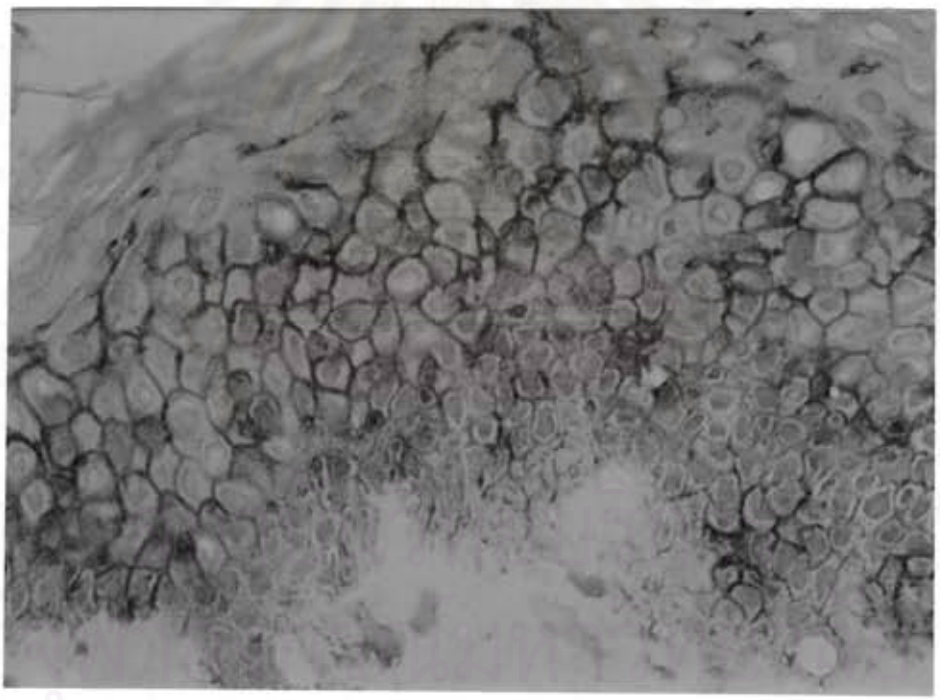
ภาพที่ 10 กราฟแสดงจำนวนของผื่น PPE ทั้งหมดในผู้ป่วยแต่ละราย



ภาพที่ 11 แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายของผื่น PPE

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงด้านจำนวนของ epidermal LC ในผื่น PPE

ผลการศึกษาด้วยวิธีการทางอิมมูโนพยาธิวิทยา Avidin - biotin - peroxidase complex method โดยใช้ monoclonal mouse antithymocyte CD1a antibody (DAKO MO721) พบ epidermal LC มีลักษณะเป็น dendritic cell ย้อมติดสีน้ำตาลอยู่บริเวณ suprabasal layer ของ ผิวหนังชั้นหนังกำพร้า (ภาพที่ 12) โดยรูปแบบของการเรียงตัวของ epidermal LC ที่พบนี้ แบ่งออกได้เป็น 2 รูปแบบ คือ 1) discrete pattern มีการเรียงตัวกระจัดกระจายไปไม่สม่ำเสมอ 2) network pattern มีการเรียงตัวกระจายเป็นร่างแหครอบคลุมผิวหนังชั้นหนังกำพร้าทั้งหมด สำหรับความหนาแน่นของ epidermal LC นั้น แสดงดังตารางที่ 5



ภาพที่ 12 ภาพถ่ายภาคตัดขวางของผิวหนัง แสดงภาพ epidermal LC ซึ่งถูกย้อมด้วย anti CD 1a monoclonal Antibody

ตารางที่ 5 แสดงความหนาแน่นของ epidermal LC ในผื่น PPE ทั้งผื่นใหม่ - ผื่นเก่า และผิวหนังปกติของผู้ป่วยในบริเวณใกล้เคียงกัน

ผู้ป่วยรายที่	เพศ[a]	อายุ (ปี)	ปัจจัยเสี่ยง[b]	CDC[c]	CD4[d]	ตำแหน่งที่ทำ SKIN BIOPSY[e]	ความหนาแน่นของLC[f]		
							ผื่นใหม่	ผื่นเก่า	ผิวหนังปกติ
1	M	43	Ht	A3	14	U	106.3	88.2	83.4
2	F	43	Ht	B3	23	U	7.10	37.4	27.1
3	M	34	Ht	C3	17.8	T	123.2	130.4	68.6
4	M	54	Ho	C3	115.08	U	111.6	31.0	43.2
5	F	33	Ht	B2	304	L	196.6	116.0	124.6
6	M	39	Ht	B3	108	U	196.6	114.5	133.0
7	M	49	Ht	B3	11	U	136.0	46.4	171.7
8	M	26	Ht	B3	84	T	68.4	75.3	107.5
9	M	49	Ht	C3	19	T	130.3	119.0	75.4
10	M	57	Ht	C3	11	U	223.0	92.0	101.3
11	M	23	Ht	B3	39	U	105.1	124.9	155.4
12	M	29	Ht	C3	99	U	131.5	23.2	25.1
13	M	24	Ht	B3	18	U	167.3	154.1	48.8
14	M	29	Ht	B3	33	U	288.2	117.9	111.7
15	M	32	Ht	C3	31	U	124.8	109.2	0
16	M	32	Ht	C3	13	T	152.6	101.7	79.4
17	M	30	Ht	B3	25	U	186.5	150.0	114.0
18	M	24	Ht	B3	67	L	168.0	113.2	91.5
19	M	31	Ht	C3	153	U	152.1	81.2	28.9
20	M	24	Ht	C3	17	U	226.3	106.8	31.3

[a] M , Male ; F , Female

[b] Ht , Heterosexual ; Ho , Homosexual

[c] Revised Classification System of HIV Disease

Center for Disease Control and Prevention (January 1993)

[d] Total CD 4 + T - cell count in peripheral blood (cells / mm^3)

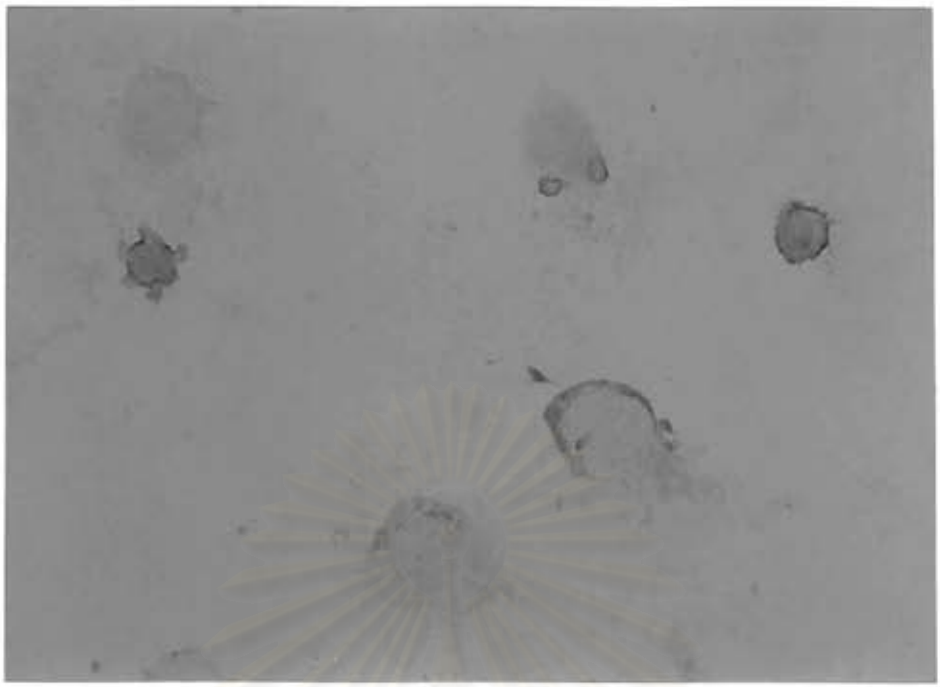
[e] U , Upper extremities ; L , Lower extremiteis ; T , Trunk ; H , Head and Neck.

[f] cells per mm^2 of epidermal surface section

จากข้อมูลในตารางที่ 5 จะเห็นได้ว่า ผู้ป่วยจำนวน 10 ราย จากทั้งหมด 20 ราย (ร้อยละ 50) มีความหนาแน่นของ epidermal LC ในผื่น PPE (ผื่นใหม่) สูงกว่าผื่นเก่า และผื่นเก่า สูงกว่าในผิวหนังปกติของผู้ป่วยในบริเวณใกล้เคียงกัน ตามลำดับ ผู้ป่วย 5 ราย (ร้อยละ 25) มี epidermal LC ในผื่นใหม่หนาแน่นกว่าในผื่นเก่า ซึ่งมีจำนวนใกล้เคียงกับในผิวหนังปกติ ผู้ป่วยร้อยละ 10 (2 ราย) มี epidermal LC ในผิวหนังปกติหนาแน่นกว่าในผื่นเก่าและผื่นใหม่ตามลำดับ ส่วนในผู้ป่วยอีก 3 ราย (คิดเป็นร้อยละ 15) ไม่สามารถให้ผลสรุปที่จำเพาะได้ (non - specific findings)

ผลการศึกษาหาหลักฐานของเชื้อไวรัส HIV ในผื่น PPE

ผลการศึกษาวิธีการทางอิมมูโนพยาธิวิทยา Avidin - biotin - peroxidase complex method โดยใช้ monoclonal mouse Anti - HIV , p 24 (DAKO MO 857) ไม่พบเซลล์ที่ทำปฏิกริยากับ Ab ดังกล่าวเลยทั้งในผิวหนังชั้นหนังแท้ และหนังกำพร้า ในขณะที่ให้ผลบวกกับ HIV- infected cell line ซึ่งได้เพาะเลี้ยงไว้เป็นกลุ่มควบคุมที่ให้ผลบวก (positive control group) ดังแสดงใน ภาพที่ 10 ซึ่งพบเป็นเซลล์ซึ่งย้อมติดสีน้ำตาล



ภาพที่ 13 ภาพแสดง HIV - infected cell line ซึ่งทำปฏิกริยากับ Anti - HIV , p 24 monoclonal Antiboby

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ epidermal LC ในผื่น PPE และตรวจหาหลักฐานของเชื้อไวรัส HIV ที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ชนิดนี้ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

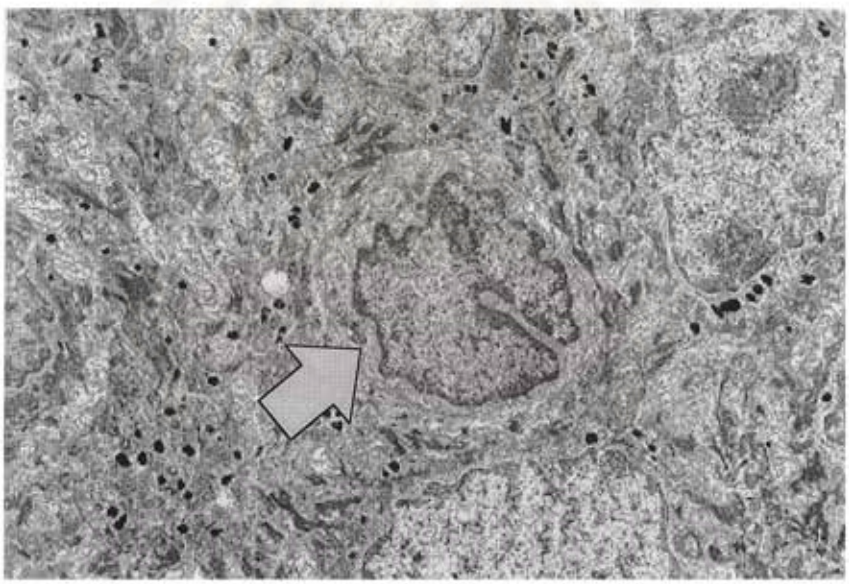
พบการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ epidermal LC ซึ่งบ่งชี้ว่ามีการทำลายของเซลล์เกิดขึ้น ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะของ LC จาก dendritic cell ซึ่งมี dendrites ยื่นออกไปกลายเป็น round cell ที่มี dendrite หดสั้นลง (ภาพที่ 14 และ 15) พบการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ เช่น condensation of nuclear chromatin (ภาพที่ 16) มีการบวมของ cytoplasmic organells ชนิดต่าง ๆ (ภาพที่ 17 และ 18) , พบ vacuolar formation ภายใน cytoplasm (ภาพที่ 21) รวมทั้งยังพบว่ามีการทำลายของเซลล์เกิดขึ้นอย่างชัดเจนทั้ง early และ frank cytolysis (ภาพที่ 22 และ 23) ไปจนถึงการฉีกขาดของเซลล์เมมเบรนอันมีผลให้ cytoplasmic organells หลุดออกไปนอกเซลล์อีกด้วย (ภาพที่ 24) สำหรับการตรวจหาหลักฐานของเชื้อไวรัส HIV สัมพันธ์กับ epidermal LC นั้น ไม่พบ HIV viral particles หรือ HIV-associated structure ใด ๆ เลย การเปลี่ยนแปลงภายนอกเซลล์ของ epidermal นั้นพบ foam-/bubble-like structure ในช่องว่างนอกเซลล์ ระหว่าง epidermal LC และ keratinocyte (ภาพที่ 26) ซึ่งหลักฐานดังกล่าวนี้แสดงว่ามีการทำลายเซลล์เมมเบรนของเซลล์ชนิดใดชนิดหนึ่งในผิวหนังชั้นหนังกำพร้า (ข้อมูลเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงในผื่น PPE ทั้ง 2 ชนิด และผิวหนังปกติในบริเวณใกล้เคียง แสดงดังตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 แสดงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ epidermal LC ในผื่น PPE เปรียบเทียบกับผิวหนังปกติบริเวณใกล้เคียงกันและแสดงหลักฐานการติดเชื้อไวรัส HIV ของเซลล์ดังกล่าว

การเปลี่ยนแปลงที่ตรวจพบ	จำนวนชิ้นเนื้อที่ตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของ LC			
	ผื่น PPE ใหม่	ผื่น PPE เก่า	ผิวหนังปกติ	รวม
1. การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ epidermal LC				
• round cells	2	2	2	6
• blunt dendrites	5	3	4	12
• condensation of cytoplasm	-	-	-	-
• condensation of nuclear chromatin	-	2	-	2
• swelling of cytoplasmic organells				
◆ mitochondria	2	1	2	5
◆ rough endoplasmic reticulum	2	2	1	5
• ↑ nucleus / cytoplasmic ratio	1	1	2	4
• ↑ No. of lamellar body	-	1	1	2
• vacuolar formation	2	11	6	19
• cytolysis of cells				
◆ early (partial)	1	2	1	4
◆ frank	2	-	1	3
• rupture of plasma membrane with extrusion of cytoplasmic organells	1	-	-	1
• ↑ No. and elongation of Birbeck's granules	2	1	1	4
2. การพบ viral - like particles และ viral associated structures	-	-	-	-
3. การเปลี่ยนแปลงภายนอก LC				
• intercelluar edema และ widening of intercellular space	3	4	2	9
• foam-/ bubble-like structures อยู่ในช่องว่างนอกเซลล์ระหว่าง LC และ keratinocytes	2	6	3	11

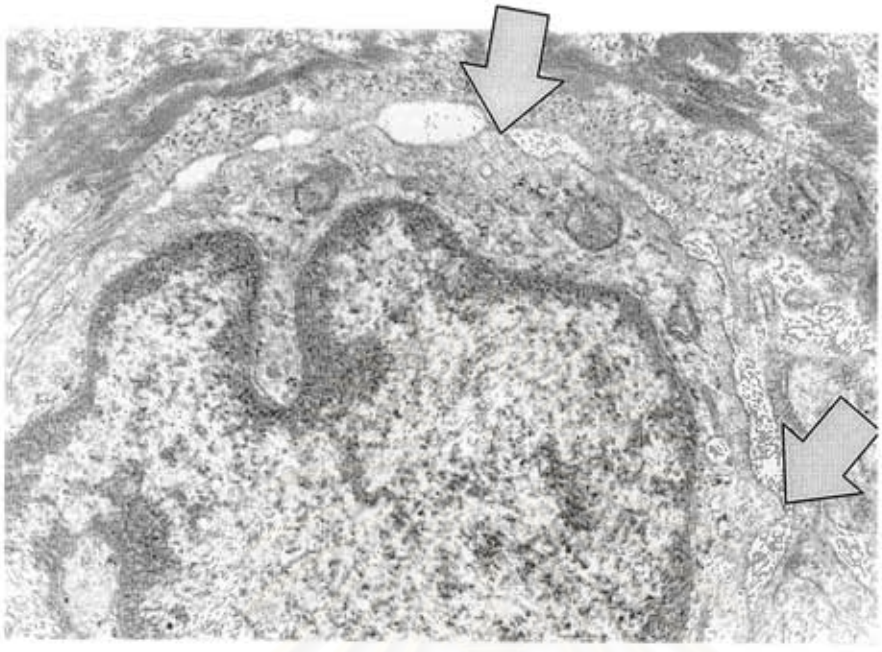
การเปลี่ยนแปลงอื่น ๆ ที่พบนอกเหนือจากข้อมูลที่แสดงในตารางที่ 6 มีดังนี้

- การพบ secondary lysosome , การเพิ่มจำนวนของ ribosome , การพบ membrane bound material ไม่ทราบชนิดในช่องว่างนอกเซลล์ระหว่าง keratinocytes และ LC แต่การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้พบได้น้อยมาก จึงไม่น่าจะมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดผื่น PPE , น่าจะเป็นสิ่งที่พบโดยบังเอิญมากกว่า
- epidermal LC ในผื่น PPE และผิวหนังปกติของผู้ป่วยบางราย มีโครงสร้างปกติ
- ไม่พบ epidermal LC จากการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนจากชิ้นเนื้อบางชิ้นในผู้ป่วย และผู้ป่วยบางรายสุ่มตรวจไม่พบเซลล์ชนิดนี้เลยจากชิ้นเนื้อทั้งสามชิ้น

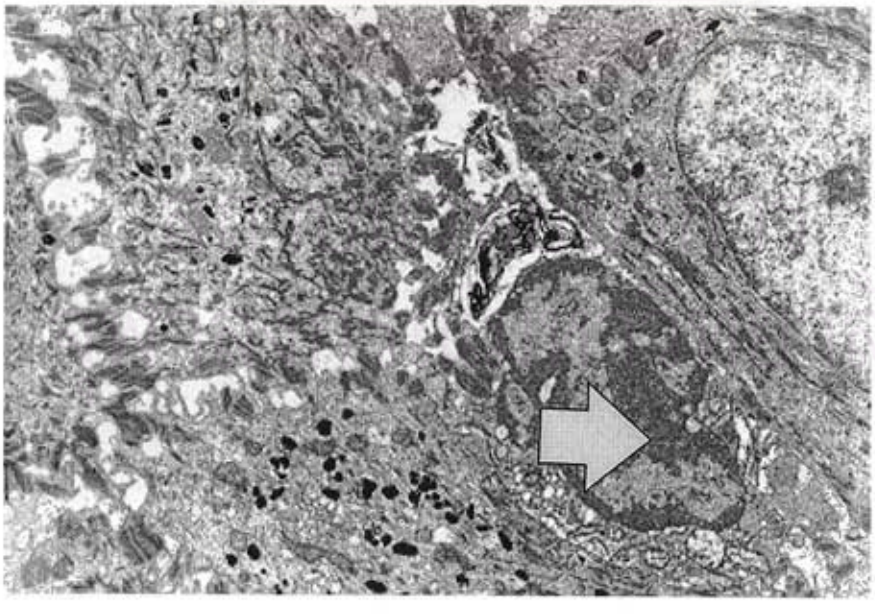


ภาพที่ 14 ภาพแสดง epidermal LC ซึ่งมีลักษณะเป็น round cells

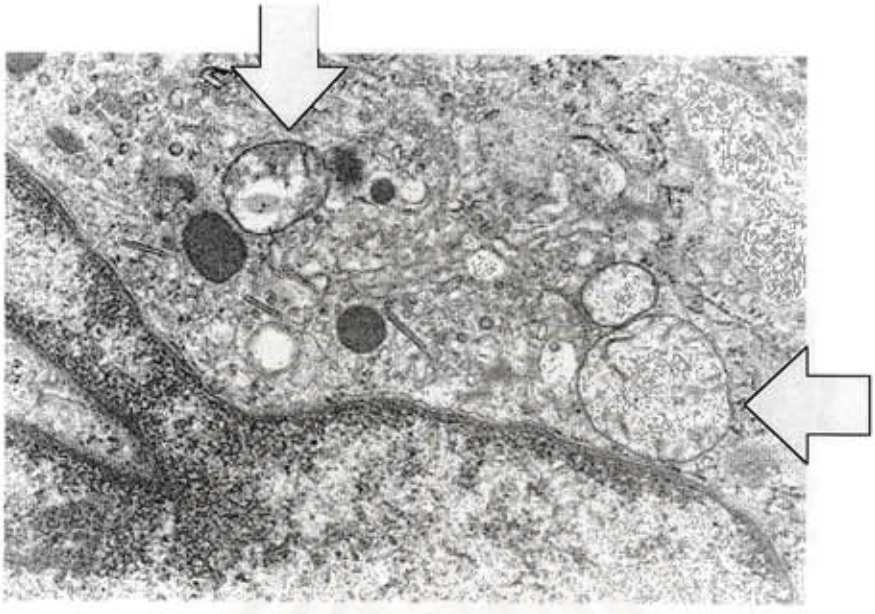
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



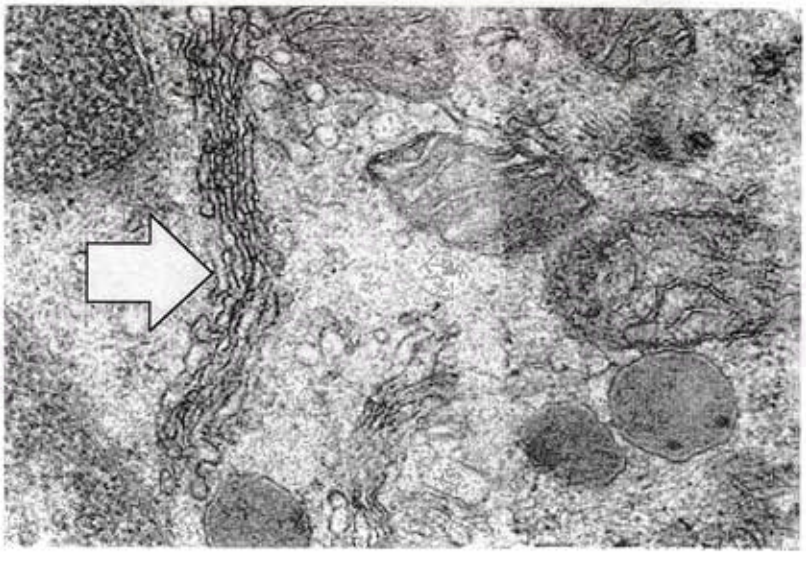
ภาพที่ 15 ภาพแสดง epidermal LC ซึ่งมี blunt dendrites



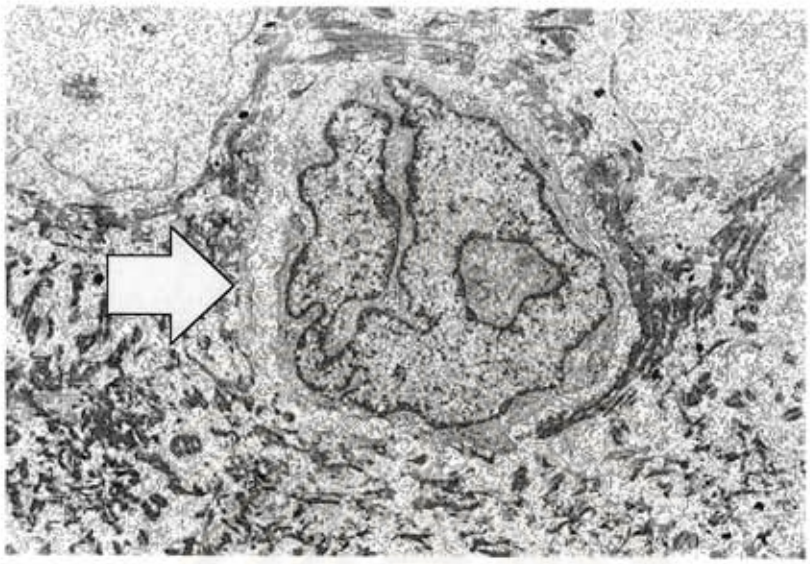
ภาพที่ 16 ภาพแสดง condensation of nuclear chromatin ของ epidermal LC



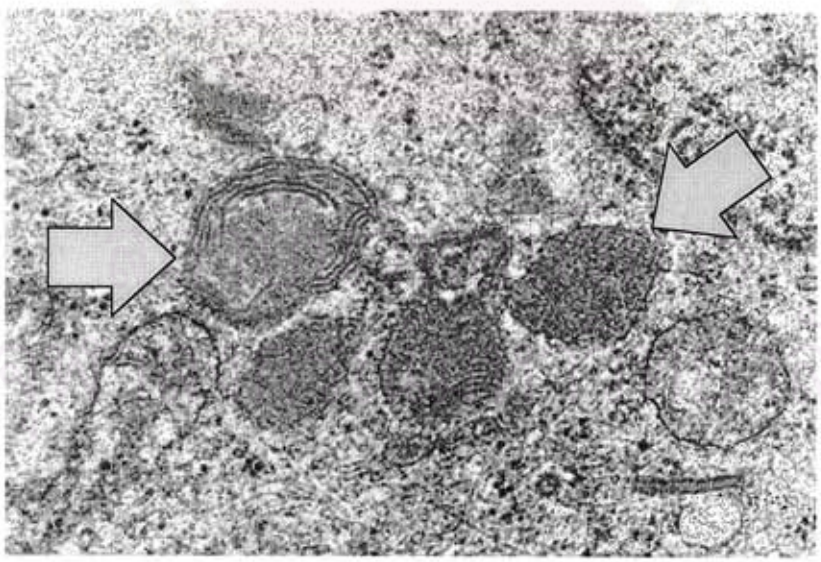
ภาพที่ 17 ภาพแสดงภาวะ swelling ของ mitochondria ของ epidermal LC



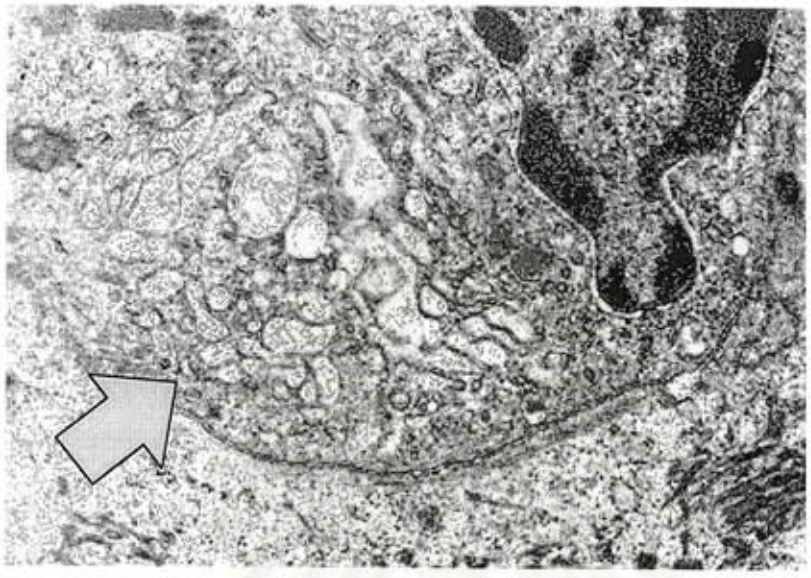
ภาพที่ 18 ภาพแสดงภาวะของ swelling ของ rough endoplasmic reticulum ของ epidermal LC



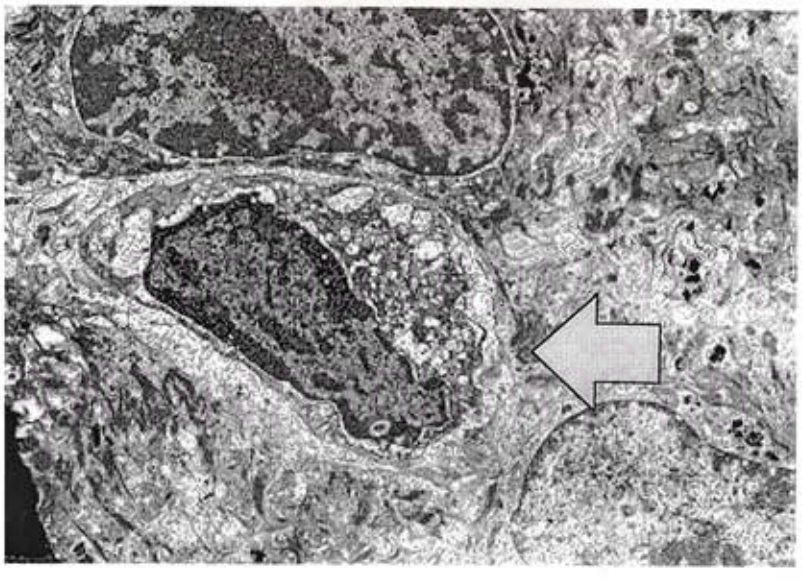
ภาพที่ 19 ภาพแสดง epidermal LC ที่มีการเพิ่มขึ้นของ nucleus and cytoplasmic ratio



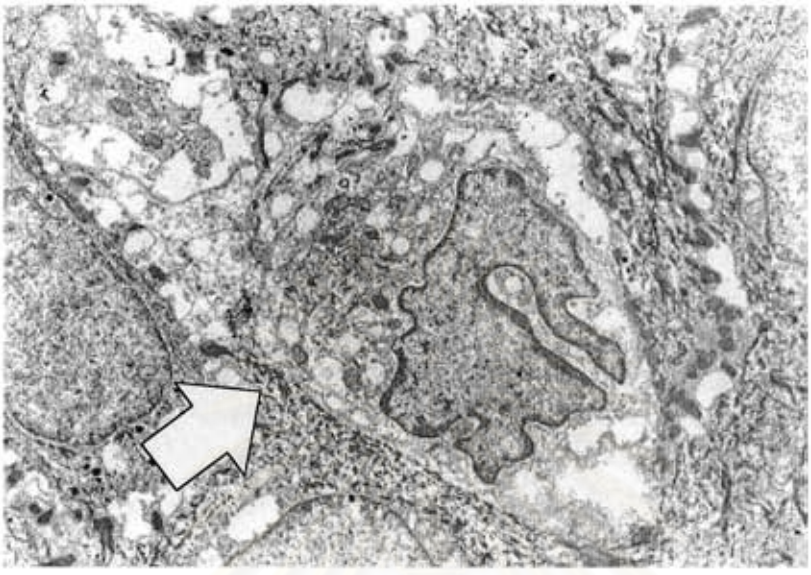
ภาพที่ 20 ภาพแสดงการเพิ่มจำนวนของ lamellar bodies ใน epidermal LC



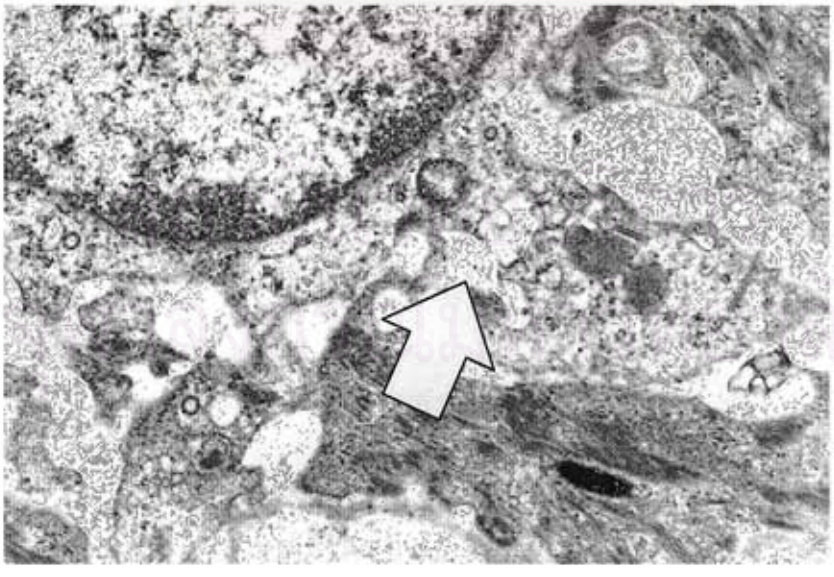
ภาพที่ 21 ภาพแสดง vacuolar formation ภายใน cytoplasm ของ epidermal LC



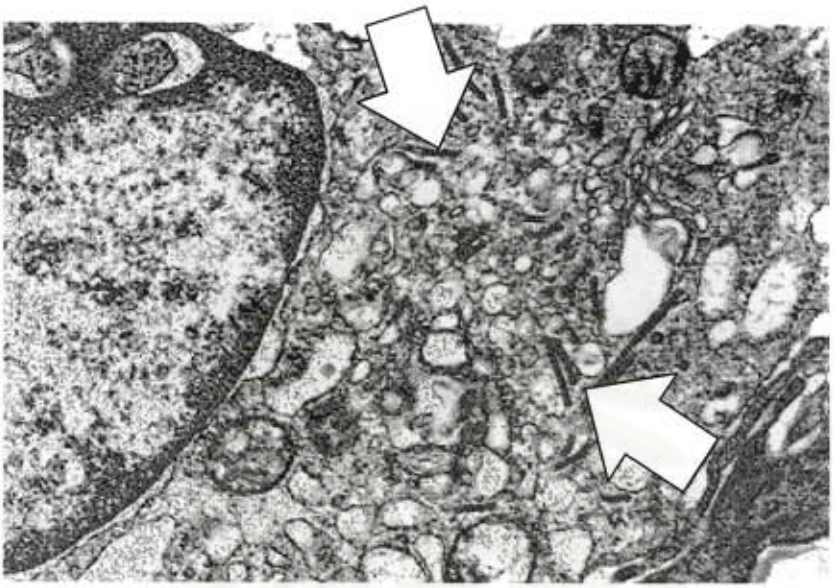
ภาพที่ 22 ภาพแสดงภาวะ early cytolysis ของ epidermal LC



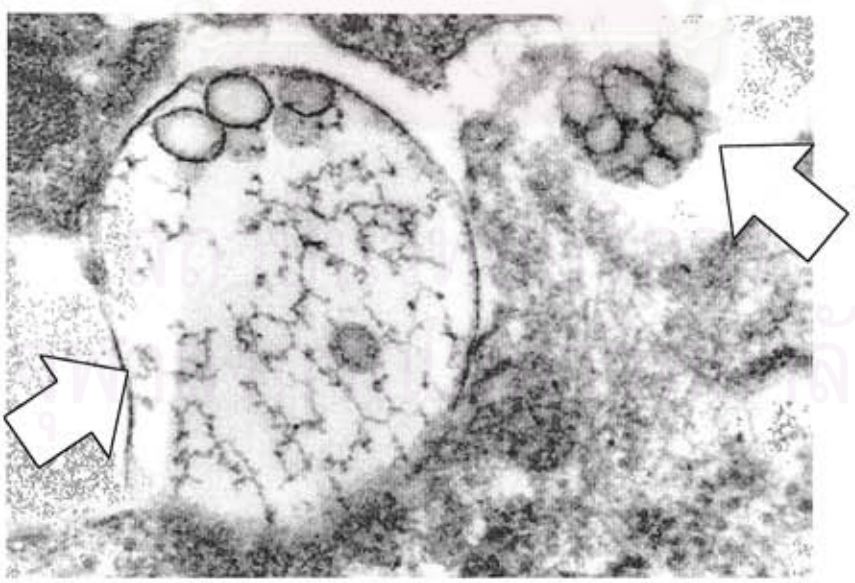
ภาพที่ 23 ภาพแสดงภาวะ frank cytolysis ของ epidermal LC



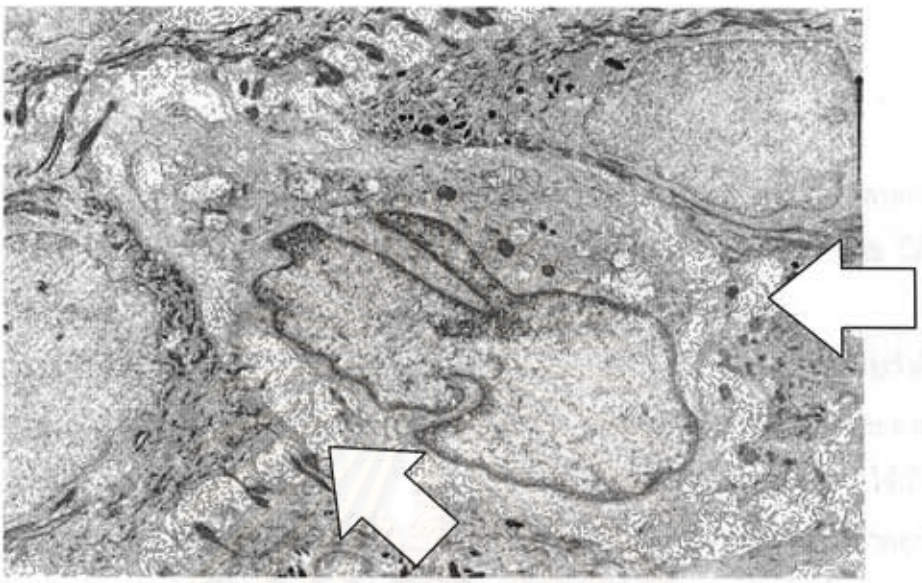
ภาพที่ 24 ภาพแสดงภาวะ rupture of plasma membrane ของ epidermal LC



ภาพที่ 25 ภาพแสดงภาวะที่มีการเพิ่มจำนวนของ Birbeck's granules และ Birbeck's granules มีความยาวมากกว่าปกติ



ภาพที่ 26 ภาพแสดง foam- / bubble - like structures ในช่องว่างนอกเซลล์ระหว่าง epidermal LC และ keratinocytes



ภาพที่ 27 ภาพแสดงภาวะ intercellular edema และ widening of intercellular space ใน ผิวหนังชั้นหนังกำพร้า จากผื่น PPE

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย