

## บทที่ 2

### ปริทรรศน์วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

#### ตับอักเสบจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ ซี

นานมาแล้วที่วงการแพทย์รู้จัก non A non B Hepatitis ซึ่งเชื่อว่าเกิดจากเชื้อไวรัสชนิดหนึ่ง แต่ไม่ใช่ไวรัส hepatitis A ( HAV ) หรือไวรัส hepatitis B ( HBV ) จนกระทั่งปีค.ศ.1989 ที่มีการค้นพบ genome ของไวรัส hepatitis C ( HCV ) โดยวิธีการทำ molecular cloning จากลิง chimpanzees ที่ได้รับการทดลองให้ human factor VIII concentrate ที่มีเชื้อไวรัสอยู่ (10) หลังจากนั้นก็ได้มีการศึกษามากมายตามมาและก็พบว่า HCV เป็นสาเหตุส่วนใหญ่ของผู้ป่วยที่เป็น non A non B hepatitis โดยเฉพาะอย่างยิ่งจาก posttransfusion ผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อส่วนน้อยเท่านั้นที่จะมีตับอักเสบเฉียบพลัน ซึ่งเกือบทั้งหมดไม่มีอาการ และมากกว่าร้อยละ 80 จะกลายเป็นตับอักเสบเรื้อรังและมีการอักเสบของตับอย่างต่อเนื่องในระดับที่ไม่รุนแรงมากนัก แต่จะมีดำเนินไปอย่างช้าๆจนเกิดภาวะตับแข็งและมะเร็งตับในที่สุด บางการศึกษาพบว่าจะมีภาวะตับแข็งสูงถึงร้อยละ 20 ภายในระยะเวลาประมาณ 20 ปีและในจำนวนนี้จะเกิดมะเร็งตับชนิด hepatocellular carcinoma ( HCC ) สูงถึงร้อยละ 1 ต่อปี (11)

#### ไวรัสวิทยา

HCV เป็นไวรัสชนิด RNA สายวงเดี่ยวที่มีลักษณะทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับไวรัสในกลุ่ม *Flaviviridae* มีสายพันธุกรรมที่ประกอบด้วย nucleotides ประมาณ 9400 ตำแหน่งซึ่งทำการสร้างสาร amino acids ได้ 3000 โมเลกุลและอีก 400 base pairs ซึ่งอยู่ที่ปลายสายทั้งสองข้างไม่ได้ทำหน้าที่ใดๆ สาร amino acids ที่สร้างขึ้นประกอบเป็นโปรตีนทั้งที่เป็นชนิด structural ซึ่งเป็นส่วนองค์ประกอบทางโครงสร้างของตัวไวรัส และ nonstructural ซึ่งเป็นส่วนประกอบอื่นๆ ส่วนที่ทำหน้าที่สร้างโปรตีนชนิด structural คือส่วน C สำหรับสร้าง nucleocapsid ส่วน E1 และ E2/NS1 ทำหน้าที่ในการสร้าง envelop และส่วนโปรตีนชนิด nonstructural ก็ประกอบด้วยโปรตีนสำหรับทำ

หน้าที่ในเรื่อง membrane binding และเอ็นไซม์ต่างๆเช่นเอ็นไซม์ helicase และ protease ที่ปลายสาย RNA ทั้งสองด้านยังมีส่วนที่เป็นส่วน noncoding ซึ่งไม่ได้ทำหน้าที่ในการสร้างส่วนประกอบใดๆของตัวไวรัสอีกด้วย เรียกว่า 3' noncoding และ 5' noncoding ดังแสดงในภาพที่ 1 (12)

สายพันธุกรรมของไวรัส HCV มีความแปรปรวนสูงมาก ปัจจุบันพบว่าสามารถแยกออกเป็น genotype ได้อย่างน้อย 6 ชนิด ซึ่งในแต่ละชนิดจะมีตำแหน่งของ nucleotides ต่างกันอยู่ร้อยละ 31-34 นอกจากนี้ในแต่ละ genotype ยังแบ่งสามารถแบ่งออกเป็น subtype ได้อีกหลายชนิด โดยที่ จะมีตำแหน่งของ nucleotides ต่างกันอยู่ร้อยละ 20-23 ในระหว่างแต่ละ subtype แม้แต่ไวรัสที่อยู่ในชนิด subtype เดียวกันก็ยังสามารถพบว่ามีค่าความแปรปรวนอยู่ถึงร้อยละ 10

ส่วนที่มีความแปรปรวนน้อยที่สุดในระหว่างแต่ละ genotype ก็คือส่วนที่เป็น 5' noncoding ซึ่งพบว่ามีค่าความแปรปรวนของสายพันธุกรรมอยู่น้อยกว่าร้อยละ 8 ดังนั้นจึงเป็นบริเวณที่นิยมใช้เป็น primer ในการตรวจหา HCV-RNA ด้วยวิธีการต่างๆทางชีวโมเลกุลเช่นวิธี polymerase chain reaction ( PCR ) หรือวิธี branched deoxyribonucleic acid ( bDNA ) เพื่อให้ได้ผลการตรวจที่เชื่อถือได้มากที่สุด คือสามารถตรวจได้ทุก genotype โดยการตรวจครั้งเดียว ส่วนบริเวณปลายด้าน amino ของส่วน E2/NS1 เป็นบริเวณที่เรียกว่าบริเวณ hypervariable คือมีความแปรปรวนสูงที่สุดซึ่งมีความสำคัญในการที่ไวรัสสามารถป้องกันตัวเองจากระบบภูมิคุ้มกันของมนุษย์ ซึ่งเชื่อว่าอาจเป็นกลไกหนึ่งที่ทำให้ไวรัส HCV สามารถมีการติดเชื้อเรื้อรังอยู่ตลอด

ปัจจุบันหลักการในการแบ่งและเรียกชนิด genotype ต่างๆของไวรัส HCV ยังมีความสับสนอยู่มาก การแบ่งชนิดของ genotype ที่เป็นที่ยอมรับและใช้อ้างอิงกันมากที่สุดก็คือวิธีที่ Simmonds และคณะได้เสนอไว้ในปีค.ศ. 1994 คือแบ่งออกเป็น 6 genotype หลักเป็น genotype 1 ถึง 6 และแต่ละ genotype อาจแบ่งย่อยออกเป็น subtype a หรือ b หรือ c แล้วแต่ genotype นั้นๆ ตารางที่ 1 (13) ได้เปรียบเทียบการแบ่ง genotypes ในแบบต่างๆที่ได้มีการรายงานไว้

## ระบาดวิทยา

การติดต่อของไวรัส HCV อาศัยทาง parenteral route เป็นหลัก ปัจจัยเสี่ยงที่พบได้บ่อยที่สุดคือการได้รับเลือดหรือส่วนประกอบของเลือด ต่อมาภายหลังเมื่อมีการตรวจ screening โดยทำการตรวจหา anti-HCV ด้วยวิธีการที่มี sensitivity สูงมากขึ้นในเลือดที่ได้รับบริจาคทั้งหมด ก็ทำให้อัตราการติดเชื้อไวรัส HCV จากการได้รับเลือดหรือส่วนประกอบของเลือดลดลงอย่างมาก อย่างไรก็ตามการตรวจหา anti-HCV ไม่ได้เป็นการตรวจหาส่วนประกอบของตัวไวรัสโดยตรงแต่เป็นการตรวจหา antibody ซึ่งเป็นภูมิคุ้มกันของร่างกายผู้ที่ได้รับเชื้อ ดังนั้นจึงมีข้อจำกัดอยู่มาก ที่สำคัญคือจะตรวจพบหลังจากได้รับเชื้อแล้วโดยเฉลี่ย 12 สัปดาห์ และในบางรายอาจจะใช้เวลาในการตรวจพบ antibody นานถึง 6 เดือนหลังจากได้รับเชื้อไวรัส (14) ปัจจัยเสี่ยงอื่นๆก็คือการใช้เข็มฉีดยาร่วมกันกับผู้อื่นเช่นในผู้ติดยาเสพติดชนิดฉีดหรือ IVDU และผู้ป่วยไตวายเรื้อรังที่ได้รับการทำ hemodialysis มีการศึกษาพบว่าในผู้ป่วยไตวายเรื้อรังที่ได้รับการทำ hemodialysis สม่ำเสมออยู่จะมีผลบวกต่อ anti-HCV โดยเฉลี่ยประมาณ 20%

สำหรับบุคลากรทางการแพทย์ซึ่งให้บริการดูแลผู้ป่วยพบว่าไม่ได้มีความเสี่ยงต่อการได้รับเชื้อไวรัส HCV มากกว่าบุคคลทั่วไป ส่วนผู้ที่ได้รับอันตรายจาก needle stick injury จากผู้ป่วยที่เป็นตับอักเสบจากไวรัส HCV พบว่ามีอัตราการติดเชื้อคือเกิด seroconversion 0-10% และแม้ว่าจะมีการตรวจพบว่ามี HCV-RNA ในน้ำลาย ปัสสาวะ น้ำอสุจิ และ ascitic fluid ด้วยแต่การติดต่อทางเพศสัมพันธ์และการอยู่ร่วมกันใกล้ชิดหรือ household contact พบว่ามีน้อยมาก (15)

มีผู้ป่วยตับอักเสบเรื้อรังจากไวรัส HCV อีกประมาณ 40-50% ที่ไม่มีประวัติการมี parenteral exposure ต่อไวรัส HCV เลยและไม่สามารถหาปัจจัยเสี่ยงพบ เรียกว่ากลุ่มผู้ป่วย sporadic ซึ่งผู้ป่วยเหล่านี้ยังไม่ทราบว่าได้ติดเชื้อไวรัส HCV มาอย่างไร มีบางรายงานพบว่าในผู้ป่วยกลุ่มนี้มีอยู่ส่วนหนึ่งที่มีประวัติการใช้ยาเสพติดชนิดฉีดหรือ IVDU แต่ได้ปฏิเสธในการให้ประวัติครั้งแรก

## การดำเนินโรค

จากการศึกษาผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อไวรัส HCV เข้าสู่ร่างกายโดยการได้รับเลือดพบว่า ผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อจะมีระดับของ transaminases ในเลือดสูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 2-26 หลังการได้รับเลือด โดยค่าเฉลี่ยคือ 8.3 สัปดาห์ ระดับของ transaminases ในเลือดของผู้ป่วยจะมีเปลี่ยนแปลงแบบ polyphasic โดยในช่วงแรกโดยจะสูงที่สุดในช่วงสัปดาห์ที่ 8-12 หลังการได้รับเลือด หลังจากนั้นระดับจะลดลงเรื่อยๆ เมื่อติดตามผู้ป่วยต่อไปพบว่าระดับ transaminases จะอยู่ที่ประมาณ 3 เท่า และ 1.5 เท่าของค่าปกติที่ 1 และ 10 ปีตามลำดับ (5) ในผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อทั้งหมดจะมีผู้ป่วยจำนวนน้อยมากที่มีอาการ แต่เมื่อติดตามต่อไปอีก 16 ปีพบว่าร้อยละ 69 จะเป็นตับอักเสบเรื้อรังและร้อยละ 20 เป็นตับแข็ง อีกการศึกษาหนึ่งพบว่าในผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อ HCV จากการได้รับเลือดจะเกิดภาวะตับแข็งและมะเร็งตับร้อยละ 51 และ 5.3 ตามลำดับ โดยที่มีระยะเวลาเฉลี่ยนับจากการได้รับเลือดจนเกิดภาวะตับแข็งและมะเร็งตับเป็น 20.6 และ 28.3 ปีตามลำดับ (16)

วิธีการที่ดีที่สุดในปัจจุบันที่จะบอกถึงระดับความรุนแรงของตับอักเสบที่เกิดจากไวรัส HCV คือการตรวจทางพยาธิวิทยาของเนื้อตับที่ได้จากการทำ liver biopsy การวัดระดับความรุนแรงของตับอักเสบทางพยาธิวิทยาก็ยังมีความล้าสมัยอยู่ ในอดีตได้มีการแบ่งระดับความรุนแรงของตับอักเสบทางพยาธิวิทยาออกเป็น chronic persistent hepatitis ( CPH ) และ chronic active hepatitis ( CAH ) และรุนแรงที่สุดก็คือมีภาวะตับแข็งหรือ cirrhosis ต่อมามีการแบ่งระดับความรุนแรงของตับอักเสบทางพยาธิวิทยาละเอียดยิ่งขึ้นโดยใช้เป็นระบบการให้คะแนนแทน ได้มีผู้เสนอการแบ่งระดับความรุนแรงของตับอักเสบเรื้อรังทางพยาธิวิทยาจากสาเหตุต่างๆไว้หลายระบบดังสรุปได้ในตารางที่ 2 (17) ระบบการใช้ Histologic activity index ( HAI ) ซึ่งได้รับการเสนอโดย Knodell และคณะเป็นระบบที่ได้รับความนิยมมาก แต่มีข้อเสียคือไม่มีการแยกระหว่างระดับความรุนแรงของการอักเสบและระดับความรุนแรงของการเกิดภาวะตับแข็งหรือระดับของการเกิด fibrosis ซึ่งนำไปสู่การเกิดภาวะตับแข็งออกจากกัน ขณะที่ระบบที่ได้รับการเสนอโดย Scheuer โดยที่ถูกต้องเปลี่ยนแปลงและนำเสนอภายหลังโดย Ludwig ได้มีการแยกระดับความรุนแรงของการอักเสบหรือ grading และระดับความรุนแรงของการเกิดภาวะตับแข็งหรือ staging ออกจากกันชัดเจนดังแสดงในตารางที่ 3 (18)

ทั้งระดับความรุนแรงของตับอักเสบหรือ grading และระดับความรุนแรงของการเกิดภาวะตับแข็งหรือ staging เป็นปัจจัยสำคัญในการตัดสินใจรักษาและบอกการพยากรณ์โรคของตับอักเสบจากไวรัส HCV มาตลอด ได้มีการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาในผู้ป่วยตับอักเสบจากไวรัส HCV โดย Yano และคณะซึ่งรายงานว่าผู้ป่วยที่มีระดับความรุนแรงของตับอักเสบทางพยาธิวิทยาหรือ grading ตามระบบ modified Scheuer สูงคือมากกว่าหรือเท่ากับ 5 จะเกิดภาวะตับแข็งร้อยละ 100 ใน 10 ปีและปานกลางคือ 3.5-4.9 จะเกิดภาวะตับแข็งร้อยละ 96 ใน 17 ปี ส่วนผู้ป่วยที่มีระดับความรุนแรงของตับอักเสบทางพยาธิวิทยาน้อยกว่าหรือเท่ากับ 3.4 จะเกิดภาวะตับแข็งเพียงร้อยละ 30.4 ใน 13 ปี นอกจากระดับความรุนแรงของตับอักเสบแล้วยังพบว่าระดับความรุนแรงของการเกิดภาวะตับแข็งหรือ staging เมื่อเริ่มต้นก็ให้ผลเหมือนกัน คือระดับ staging สูงคือ 3.0-3.45 จะมีภาวะตับแข็งทุกรายภายใน 10 ปี ระดับปานกลางคือ 2.0-2.9 จะมีภาวะตับแข็งทุกรายภายใน 17 ปี และระดับน้อยกว่า 1.9 จะมีภาวะตับแข็งเพียงร้อยละ 60 หลังการติดตามนานกว่า 20 ปี ดังแสดงในภาพที่ 2 (19) ทั้งนี้เนื่องจากระดับ staging ก็คือค่าที่บ่งบอกถึงระยะเวลาที่ผู้ป่วยมีตับอักเสบมา คือเมื่อผู้ป่วยมีภาวะ fibrosis มากก็แสดงว่าผู้ป่วยมีการอักเสบเรื้อรังของตับมานานและใกล้จะมีภาวะตับแข็งมากกว่าผู้ป่วยที่มีระดับ staging น้อยกว่า

ปัจจัยที่มีผลต่อระดับความรุนแรงของตับอักเสบทางพยาธิวิทยายังไม่สามารถสรุปได้แน่นอน มีการศึกษาจำนวนมากเกี่ยวกับปัจจัยต่างๆทั้งจากตัวไวรัส HCV เอง ทั้งเกี่ยวกับตัวผู้ป่วยหรือ host และปัจจัยแวดล้อมอื่นๆ ซึ่งผลก็ยังไม่ออกมาสนับสนุนบ้างคัดค้านบ้าง ปัจจัยต่างๆที่มีการศึกษาและพบว่าน่าจะมีผลต่อระดับความรุนแรงของตับอักเสบทางพยาธิวิทยาได้สรุปไว้ในตารางที่ 5 (20) จากปัจจัยทั้งหมดที่น่าจะมีผลต่อระดับความรุนแรงของตับอักเสบทางพยาธิวิทยาและน่าจะนำมาใช้ในการพยากรณ์ระดับความรุนแรงของตับอักเสบทางพยาธิวิทยาได้คือปริมาณของไวรัสในร่างกายหรือ viral load ซึ่งสามารถวัดได้โดยการวัดระดับ HCV-RNA

Alter และคณะได้ศึกษาและติดตามผู้ป่วยที่เป็นตับอักเสบจากเชื้อไวรัสชนิด non-A non-B จำนวน 30 รายเป็นระยะเวลานาน 9 ถึง 48 เดือนก็พบว่ามีการเกิดเป็นตับอักเสบเรื้อรังประมาณร้อยละ 60 เท่ากันทั้งในกลุ่มที่มีประวัติการได้รับเลือดหรือส่วนประกอบของเลือดและกลุ่มที่ไม่มีประวัติการได้รับเลือดซึ่งเรียกว่ากลุ่ม sporadic โดยที่พบว่าระดับความรุนแรงของตับอักเสบเรื้อรังทางพยาธิวิทยาในผู้ป่วยกลุ่มที่มีประวัติการได้รับเลือดจะมีมากกว่ากลุ่มที่ไม่มีประวัติการได้รับเลือด เชื่อว่าน่าจะเป็นเพราะการได้รับเชื้อไวรัสจากการได้รับเลือดโดยตรงจะทำให้ปริมาณเชื้อไวรัสที่เข้าสู่ร่างกายมีมาก

กว่า (21) แต่อีกกลุ่มหนึ่งทำการศึกษาในผู้ป่วยจำนวนมากถึง 288 รายโดยติดตามผู้ป่วยเป็นระยะเวลานานถึง 10 ปีกลับพบว่าอัตราการเกิดตับอักเสบเรื้อรังมีสูงถึงประมาณร้อยละ 30 และมีภาวะตับแข็งประมาณร้อยละ 30 และอัตราการตายประมาณร้อยละ 4-9 โดยที่ไม่พบว่ามีผลแตกต่างกันในระหว่างกลุ่มที่มีประวัติและไม่มีประวัติการได้รับเลือด (20)

รายงานการศึกษาจากประเทศสเปนในผู้ที่มาบริจาคเลือดซึ่งไม่มีอาการผิดปกติแต่ตรวจพบว่าเป็นตับอักเสบจากไวรัส HCV พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 40 จะเป็นตับอักเสบรุนแรงและมีภาวะตับแข็งมากกว่ากลุ่มที่อายุน้อยกว่า 40 ปีคือร้อยละ 66 ต่อร้อยละ 33 ซึ่งผู้ป่วยที่อายุมากกว่ามักจะมีการติดเชื้อไวรัส HCV มาเป็นระยะเวลานานกว่า และสำหรับผู้ที่มีการติดเชื้อมานานกว่า 10 ปีก็จะพบว่าเป็นตับอักเสบรุนแรงและมีภาวะตับแข็งมากกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มที่มีประวัติการติดเชื้อมาน้อยกว่า 10 ปีคือร้อยละ 70 ต่อร้อยละ 30 (20)

มีการศึกษาจำนวนมากทำการเปรียบเทียบความรุนแรงของตับอักเสบและอัตราการเกิดภาวะตับแข็งระหว่างผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อไวรัสชนิด genotype ต่างๆกัน ส่วนมากจะเป็นการเปรียบเทียบ genotype 1b กับชนิด genotype อื่นๆเช่น 2a, 2b หรือ 3a พบว่าความรุนแรงของตับอักเสบและการเกิดภาวะตับแข็งในผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อไวรัสชนิด genotype 1b จะมากกว่าชนิด genotype อื่นๆ แต่ผลของการศึกษาดังกล่าวยังมีความขัดแย้งอยู่มาก การเปรียบเทียบดังกล่าวมีปัญหาเนื่องจากอัตราความชุกของเชื้อไวรัสชนิด genotype ต่างๆแตกต่างกันในแต่ละประเทศและกลุ่มอายุ เช่นชนิด genotype 1b มักพบในผู้ป่วยอายุมากกว่า 50 ขณะที่ชนิด genotype 3a จะพบได้บ่อยกว่าในผู้ป่วยอายุน้อย อาจจะเป็นไปได้ว่าการระบาดของไวรัสชนิด genotype 1b เกิดขึ้นก่อนทำให้ผู้ที่ได้รับเชื้อไวรัสชนิด genotype 1b เป็นมานานกว่า จึงทำให้ผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อไวรัสชนิด genotype 1b มีระดับความรุนแรงมากกว่า (22) สิ่งที่ยังคงมีข้อถกเถียงกันก็คือผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อไวรัส HCV ชนิด genotype 1b จะมีการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา interferon ไม่ได้เมื่อเทียบกับชนิด genotype อื่นๆ เช่นการศึกษาโดย Mahaney และคณะพบว่าการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา interferon ในผู้ป่วยที่เป็นชนิด genotype 1 พบแค่ร้อยละ 7 ขณะที่ genotype อื่นๆอยู่ที่ประมาณร้อยละ 40 (23)

การตรวจพบหรือไม่พบ HCV-RNA ในเลือดด้วยวิธีการตรวจแบบ qualitative นั้นพบว่ามี ความสัมพันธ์กับความรุนแรงของตับอักเสบทั้งทางด้านการตรวจวัดจากระดับ transaminases และ ทางด้านพยาธิวิทยาดังแสดงในภาพที่ 3 (24) การตรวจในแบบ qualitative นั้นเป็นการตรวจเพียงแค่ว่ามีหรือไม่มี HCV-RNA อยู่โดยที่ไม่สามารถบอกปริมาณได้ ซึ่งก็บ่งถึงเพียงแต่ว่ามีหรือไม่มีไวรัส HCV อยู่ในร่างกายเท่านั้น

การวัดปริมาณของไวรัส HCV ในเลือดของผู้ป่วยตับอักเสบจากไวรัส HCV สามารถหาได้จาก การหาระดับ HCV-RNA ของไวรัสในเลือด ซึ่งปัจจุบันมีอยู่ 2 วิธีคือวิธี competitive rt-PCR และ วิธี bDNA ซึ่งทั้งสองวิธีการอาศัยเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลในการขยายสัญญาณของ RNA ของไวรัสในเลือดตัวอย่างซึ่งวัดปริมาณได้ยากเพื่อให้สามารถวัดปริมาณได้

วิธีทาง PCR อาศัยขบวนการ reverse transcription ให้เกิดสาย complementary DNA บนสาย RNA ของไวรัส HCV เพื่อให้เกิดเป็นสายคู่แทนสาย RNA เดิมซึ่งเป็นสายเดี่ยว จากนั้นใส่ ตัวแข่งหรือ competitor ที่เป็น HCV-RNA ซึ่งถูกทำให้เกิดการ mutation และทำให้เป็นสายคู่แล้ว เช่นกันที่ความเข้มข้นในสัดส่วนต่างๆกันเข้าไป โดยที่ตัวแข่งที่ใส่เข้าไปจะสามารถทราบปริมาณแน่นอน ได้ เมื่อทำการเพิ่มจำนวนของทั้ง HCV-RNA ในตัวอย่างเลือดผู้ป่วยและ mutant RNA ที่ทราบ ปริมาณและความเข้มข้นด้วยวิธี PCR ไปพร้อมๆกัน ก็จะสามารถวัดเป็นปริมาณของ HCV-RNA ได้ โดยเทียบจากตัว mutant RNA ที่เป็นตัวแข่ง ดังแสดงในภาพที่ 4 ส่วนวิธีการทาง bDNA จะเป็นการขยายสัญญาณโดยใส่ probe เข้าไปจับกับ HCV-RNA จากนั้นก็ใส่ branched DNA ที่มีกิ่งก้าน มากมายสำหรับจับกับ enzyme ซึ่งมีหน้าที่ขยายสัญญาณให้วัดเป็นปริมาณได้เมื่อใส่ substrate เข้าไป การวัดปริมาณจะวัดได้จากความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาระหว่าง enzyme บนขาของ bDNA และ substrate ที่ใส่เข้าไป ดังแสดงในภาพที่ 5

จากการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการหาระดับของ HCV-RNA โดยวิธี PCR และ bDNA พบว่า ทั้งสองวิธีให้ค่าที่สัมพันธ์กันโดยตรง และพบว่าวิธี PCR มี sensitivity ในการวัดดีกว่า โดยที่วิธี bDNA สามารถวัดได้ระดับต่ำที่สุดคือ  $5.5 \log \text{Eq/L}$  ส่วนวิธี PCR สามารถวัดได้ระดับต่ำที่สุดถึง  $0.5 \log \text{Eq/L}$  ดังแสดงในภาพที่ 6 (25)

มีการศึกษาจำนวนมากเกี่ยวกับระดับของ HCV-RNA และระดับความรุนแรงของตับอักเสบ แต่การศึกษาที่เคยมีมาเป็นการศึกษาที่แบ่งระดับความรุนแรงของตับอักเสบออกเป็นกลุ่มๆตามการแบ่งระดับความรุนแรงทางพยาธิวิทยาแบบเดิม คือแบ่งเป็น chronic persistent hepatitis ( CPH ) คือมีการอักเสบน้อยและ chronic active hepatitis ( CAH ) คือมีการอักเสบของตับมาก และภาวะตับแข็ง ส่วนมากพบว่าในกลุ่มที่ระดับความรุนแรงของตับอักเสบมากกว่าจะมีค่าเฉลี่ยของระดับ HCV-RNA สูงกว่า แต่ยังไม่มีการศึกษาที่ดูความสัมพันธ์ของระดับ HCV-RNA กับความรุนแรงของตับอักเสบในลักษณะการหาความสัมพันธ์เพื่ออาจจะนำมาใช้แทนกันในทางปฏิบัติเลย

Lau และคณะพบว่าในผู้ป่วยตับอักเสบจากไวรัส HCV ที่มีระดับความรุนแรงของตับอักเสบ ต่างๆกันโดยการแบ่งทางพยาธิวิทยาออกเป็น CPH และ CAH และในผู้ป่วยตับแข็งจากไวรัส HCV มีระดับ HCV-RNA ไม่แตกต่างกัน แต่ก็ยังพบว่าระดับ HCV-RNA มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของ lobular inflammation (26) แต่ในการศึกษาของ Lau และคณะดังกล่าวใช้วิธีการตรวจหาระดับ HCV-RNA แบบวิธี bDNA ซึ่งมี sensitivity ค่อนข้างต่ำ

ต่อมา Kato และคณะได้ใช้วิธี competitive PCR และก็พบว่าระดับของ HCV-RNA โดยเฉลี่ยในผู้ป่วยตับอักเสบชนิด chronic persistent hepatitis ( CPH ) และ chronic active hepatitis ( CAH ) และผู้ป่วยตับแข็งคือ  $3.3 \pm 2.2 \log \text{ Eq/L}$  และ  $5.7 \pm 1.6 \log \text{ Eq/L}$  และ  $6.0 \pm 1.6 \log \text{ Eq/L}$  ตามลำดับ ซึ่งพบว่าระดับ HCV-RNA ในผู้ป่วย CPH ต่ำกว่าใน CAH และผู้ป่วยตับแข็งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าระดับ HCV-RNA น่าจะมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของตับอักเสบทางพยาธิวิทยา นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ HCV-RNA ในผู้ป่วยตับอักเสบจากไวรัส HCV จะสูงขึ้นเป็นลักษณะแบบ exponential เมื่อระยะเวลาของการติดเชื้อนานขึ้น (27) อีกการศึกษาซึ่งรายงานโดย Gretch และคณะก็ได้ผลเช่นเดียวกันกับของ Kato และคณะ คือในผู้ป่วยตับอักเสบเรื้อรังจากไวรัส HCV ที่มีการอักเสบของตับทางพยาธิวิทยารุนแรงกว่าจะมีระดับของ HCV-RNA สูงกว่า โดยระดับ HCV-RNA สูงที่สุดในผู้ป่วยตับแข็งและโรคตับระยะสุดท้าย ดังแสดงในภาพที่ 7 (28)



ไม่นานนี้ได้มีการศึกษาระดับ HCV-RNA ในเนื้อตับที่ได้จากการทำ liver biopsy พบว่าระดับของ HCV-RNA ในเนื้อตับที่หาด้วยวิธี PCR ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรคตับทางพยาธิวิทยาในผู้ป่วยตับอักเสบจากไวรัส HCV โดยในการศึกษาดังกล่าวได้พยายามหาความสัมพันธ์โดยใช้การแบ่งความรุนแรงของตับอักเสบทางพยาธิวิทยาเป็นระบบคะแนน (29) แต่ในการศึกษานี้ได้รวมผู้ป่วยทั้งก่อนและหลังได้รับการรักษาด้วยยา interferon ด้วย ซึ่งการได้รับยา interferon อาจรบกวนต่อทั้งระดับ HCV-RNA และระดับความรุนแรงของตับอักเสบทางพยาธิวิทยาไม่เท่ากัน จึงทำให้เมื่อวัดระดับครั้งเดียวขณะที่ทำ liver biopsy แล้วไม่มีความสัมพันธ์กัน

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าปริมาณไวรัส HCV ในร่างกายของผู้ป่วยตับอักเสบจากไวรัส HCV หรือระดับ HCV-RNA น่าจะมีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของตับอักเสบทางพยาธิวิทยา แต่อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของไวรัสในร่างกายและความรุนแรงของตับอักเสบจากไวรัส HCV ยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติม

ความแปรปรวนของสายพันธุ์กรรมของไวรัส HCV ก็อาจจะมีความสัมพันธ์โดยตรงต่อความรุนแรงของตับอักเสบเช่นกัน จากการศึกษาพบว่าในกลุ่มผู้ป่วย CAH และตับแข็งมี genetic diversity อยู่ร้อยละ 1.79 และร้อยละ 3.05 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มผู้ป่วย CPH คือร้อยละ 0.85 (30) แต่ก็ยังมีผลของการศึกษาอื่นที่ขัดแย้ง ทำให้ยังสรุปแน่นอนไม่ได้ (20) ในเรื่องของ genetic diversity นี้อาจไม่ได้มีส่วนเกี่ยวข้องโดยตรงกับความรุนแรงของตับอักเสบ แต่เป็นผลเนื่องมาจากการที่มีการติดเชื้อไวรัส HCV อยู่ยาวนาน คือเมื่อร่างกายได้รับไวรัสอยู่ยาวนานมีการอักเสบของตับนานกว่าทำให้ความรุนแรงของการอักเสบและการเกิดตับแข็งมากกว่า และเมื่อไวรัสมีการเพิ่มจำนวนมากและอยู่ยาวนานก็มีโอกาสที่จะมี genetic diversity สูงกว่า

ในผู้ป่วยตับอักเสบจากไวรัส HCV ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องมักจะมีการดำเนินโรคของตับอักเสบจากไวรัส HCV ที่รุนแรงกว่าในผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันปกติ มีรายงานว่ามีการเกิดภาวะตับวายรุนแรงในผู้ป่วยตับอักเสบจากไวรัส HCV ที่ได้รับการรักษาด้วยยาประเภทที่กดภูมิคุ้มกันอยู่หลังการเปลี่ยนถ่ายไขกระดูก สำหรับผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อไวรัส human immunosuppressive virus (HIV) ก็พบว่ามีการดำเนินโรคของตับอักเสบที่รุนแรงกว่าผู้ป่วยทั่วไป โดยเฉพาะในกลุ่มที่มีปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิด CD4 ต่ำๆ (20)

การดำเนินโรคของตับอักเสบจากไวรัส HCV สามารถเปลี่ยนแปลงได้จากประวัติการรักษา Nishiguchi และคณะพบว่าการรักษาด้วยยา interferon สามารถที่จะลดหรือชะลอการเกิดภาวะตับแข็งและมะเร็งตับชนิด hepatocellular carcinoma ( HCC ) ได้แม้ว่าผู้ป่วยจะอยู่ในกลุ่มที่ไม่ตอบสนองกับการรักษาคือไม่มี complete remission จากการติดตามผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยา interferon เป็นเวลา 7 ปีหลังการรักษา ซึ่งมีผู้ที่ตอบสนองต่อการรักษาแบบ complete response เพียงร้อยละ 16 ก็พบว่าอุบัติการณ์ของมะเร็งตับชนิด hepatocellular carcinoma ในกลุ่มที่ได้รับการรักษามีเพียงร้อยละ 4 ขณะที่กลุ่มควบคุมเกิดถึงร้อยละ 38 (31) ดังนั้นการรักษาผู้ป่วยตับอักเสบเรื้อรังจากไวรัส HCV จึงมีประโยชน์แม้ว่าผลของการรักษายังไม่เป็นที่น่าพอใจ