

โครงการวิจัยที่ 1
เรื่อง การศึกษาความสำคัญทางคลินิก
ของยีนอินเตอร์ลิวคิน 28 บี ในผู้ป่วยไทยที่ติดเชื้อเอชไอวี
ร่วมกับเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง
(Clinical significances of interleukin 28 B in HIV-
and hepatitis C co-infected Thai patients)

1. บทคัดย่อภาษาไทยและบทคัดย่อภาษาอังกฤษ

บทคัดย่อภาษาไทย

การประเมินสายพันธุ์ของไวรัสตับอักเสบบี ปริมาณไวรัสตับอักเสบบีในเลือด ยีน IL-28B และการเกิดเยื่อพังผืดที่ตับมีความสำคัญต่อการทำนายโรคและการพิจารณาการรักษาไวรัสตับอักเสบบี นอกจากนั้น ภาวะขาดวิตามินดีก็มีผลต่อการสร้างเยื่อพังผืดที่ตับ

การศึกษานี้เป็นแบบภาคตัดขวางในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเพียงอย่างเดียวและผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในพื้นที่กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย โดยมีการตรวจสายพันธุ์ของไวรัสตับอักเสบบี ปริมาณไวรัสตับอักเสบบีในเลือด ยีน IL-28B ระดับวิตามินดี และการเกิดพังผืดในตับด้วยเครื่องไฟโบรสแกน และได้แบ่งระยะของพังผืดในตับได้ดังนี้ ระยะแรก (Metavir F0-F1) เป็นระยะที่มีค่า stiffness น้อยกว่าหรือเท่ากับ 7.1 kPa ระยะที่ 2 หรือระยะปานกลาง (F2) เป็นระยะที่มีค่า stiffness ระหว่าง 7.2-9.4 kPa ระยะที่ 3 หรือระยะรุนแรง (F3) เป็นระยะที่มีค่า stiffness ระหว่าง 9.5-14 kPa และระยะสุดท้าย (F4) หรือ โรคตับแข็ง ที่มีค่า stiffness มากกว่า 14 kPa สำหรับการประเมินการขาดวิตามินดีนั้น มีดังนี้ หากพบค่าของ 25 hydroxy vitamin D [25 (OH) D] เท่ากับ 20-30 ng/ml แสดงว่า บุคคลนั้นๆ มีระดับวิตามินดีไม่พอ แต่หากค่า 25 hydroxy vitamin D [25 (OH) D] น้อยกว่า 20 ng/ml แสดงว่า บุคคลนั้นๆ มีภาวะขาดวิตามินดี การตรวจประเมินปริมาณไวรัสตับอักเสบบีในเลือดทำได้โดยวิธี real-time PCR assay (Abbott ค่าต่ำสุดที่ตรวจได้คือน้อยกว่า 12 copies/ml) มีการตรวจสายพันธุ์ด้วย reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) of the 5'UTR และจะถูกวิเคราะห์อย่างละเอียดโดยใช้ไพรเมอร์เฉพาะสำหรับบริเวณที่เป็น core และ NS5B ลำดับของนิวคลีโอไทด์ของทั้ง 2 บริเวณจะถูกวิเคราะห์เพื่อหาสายพันธุ์ของไวรัสตับอักเสบบีโดยวิธี phylogenetic analysis จากนั้นก็หาความแตกต่างทางพันธุกรรมที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสบนสายนิวคลีโอไทด์เพียงตำแหน่งเดียวที่ก่อให้เกิดผลที่แตกต่างกันทางกายภาพ (SNPs) ของยีนอินเตอร์ลิวคิน 28 บี (IL-28B gene) โดยใช้เครื่อง TaqMan real-time PCR (ที่ตำแหน่ง rs8099917 and rs12979860) การวิเคราะห์ข้อมูลต่างๆ ทำโดย allelic discrimination (AD) software on the ABI-7900HT.

ในการศึกษานี้ มีผู้ป่วยคนไทยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเพียงอย่างเดียว (HCV mono) จำนวน 331 คน และผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (HIV/HCVco-infected) จำนวน 130 คน ผู้ป่วยรวมทั้งสองกลุ่มส่วนใหญ่เป็นชาย (70%) และ ใช้สารเสพติดแบบเข้าเส้น (35%) และอายุเฉลี่ยเท่ากับ 43 ปี รูปแบบการกระจายตัวของยีนไวรัสตับอักเสบบี (HCV genotype (GT)) มีดังนี้ GT3 47%, GT1 34%, และ GT6 17% ความชุกของการขาดวิตามินดีเท่ากับ 62.3% เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่มพบว่า ผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีมีสัดส่วนของการใช้สารเสพติดแบบเข้าเส้นที่สูงกว่า คือเท่ากับ 62% ในขณะที่ผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเพียงอย่างเดียวเท่ากับ 24% สัดส่วนของชายรักชาย (MSM) ที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเทียบกับชายรักชายที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเพียงอย่างเดียวเท่ากับ 13% และ 0% สัดส่วนของคูรักร่างเพศที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเทียบกับคูรักร่างเพศที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเพียงอย่างเดียวเท่ากับ 19% และ 1.6% ตามลำดับ ในส่วนของยีนอินเตอร์ลิวคิน 28 บี พบว่า 91% เป็น major allele (TT) ของตำแหน่ง rs 8099917 (N=204) และ 87% เป็น major allele (CC) ของตำแหน่ง rs 12979860 (N=179) โดยรวมพบว่า 86% ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสและมีค่าเฉลี่ยของ CD 4 เท่ากับ 494 เซลล์/ลูกบาศก์มิลลิเมตร และ 78% มี HIV-RNA

< 50 copies/ml ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเพียงอย่างเดียวที่ได้ตรวจความยืดหยุ่นของตับด้วยเครื่องไฟโบรสแกน พบว่ามีระยะต่างๆ ดังนี้ ระยะแรกเท่ากับ 56.5% ระยะที่ 2 หรือระยะปานกลางเท่ากับ 18.4% ระยะที่ 3 หรือระยะรุนแรงเท่ากับ 12.4% และระยะสุดท้ายหรือตับแข็งเท่ากับ 12.7% ในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีมีอาการในระยะต่างๆ ดังนี้ ระยะแรกเท่ากับ 30.6% ระยะที่ 2 หรือระยะปานกลางเท่ากับ 27.8% ระยะที่ 3 หรือระยะรุนแรงเท่ากับ 17.6% และระยะสุดท้ายหรือตับแข็งเท่ากับ 24.1% ตามลำดับ ไวรัสตับอักเสบบี GT6 มีปริมาณไวรัสตับอักเสบบีในเลือดสูงกว่าสายพันธุ์ 1 หรือ 3 แต่มีระดับการเกิดเยื่อพังผืดในตับและมีค่าเอนไซม์ตับ ALT ต่ำกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับ GT 3 และ GT 1 การหาปัจจัยที่เชื่อมโยงกับการเกิดตับแข็งที่วิเคราะห์โดย multivariate analysis พบว่าตัวแปรที่มีผลต่อการเกิดเยื่อพังผืดในตับระดับปานกลางขึ้นไปได้แก่การติดเชื้อเอชไอวี (OR 2.67, 95% confidence interval (95%CI) 1.20-5.93), ค่า fibrosis marker: Fib 4 score >1.45 (OR 6.30, 95%CI 2.70-14.74) และระดับวิตามินดีไม่เพียงพอ (OR 2.48, 95%CI 1.09-5.67). ส่วน genotype 6 มีผลตรงข้ามคือมีผลต่อการเกิดเยื่อพังผืดในตับระดับปานกลางต่ำกว่าสายพันธุ์อื่น (OR 0.17, 95%CI 0.05-0.65)

จากผลการศึกษาสรุปได้ว่า ผู้ป่วยคนไทยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีส่วนใหญ่จะมีตัวแปรที่บอกว่าจะมีการตอบสนองต่อการรักษาได้ดีมาก ได้แก่ สายพันธุ์ HCV genotype 3 ยีน IL-28B เป็นชนิด major allele (CC) สำหรับตำแหน่ง rs 12979860 และเมื่อประเมินร่วมกับการตรวจเยื่อพังผืดในตับพบว่า 70% ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี และ 40% ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเพียงอย่างเดียวมีข้อบ่งชี้ในการรักษาเพื่อลดการเกิดเยื่อพังผืดจนกลายเป็นตับแข็งและมะเร็งตับ นอกจากนั้นค่า Fib4 score ที่มากกว่า 1.45 และภาวะการขาดวิตามินดี เป็นตัวแปรอิสระที่ช่วยทำนายการเกิดโรคตับแข็ง ซึ่งในผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีควรจะมีการประเมินระดับวิตามินดีในเลือด ถ้าพบว่าระดับไม่เพียงพอก็ควรจะมีการให้วิตามินดี เพราะการขาดวิตามินดีมีผลหลายอย่างรวมทั้งในด้านกระดูกและการเกิดเยื่อพังผืดในตับเนื่อง

เนื่องจากยาที่รักษามีราคาสูงและผลข้างเคียงมากควรจะมีการเลือกกลุ่มที่ตอบสนองต่อการรักษาดีก่อน จากการศึกษาผู้ป่วยที่มี liver fibrosis >7.5kPa, HCV genotype 3, ยีน IL-28B เป็นชนิด major allele (CC) สำหรับตำแหน่ง rs 12979860 เป็นกลุ่มที่ควรจะได้รับ การรักษา ก่อน และในกลุ่มที่ตอบสนองดีร่วมกับมี HCV RNA ลดลงเร็วมากที่ 4 สัปดาห์หลังการรักษาควรจะมีการวิจัยต่อว่ากลุ่มนี้สามารถให้การรักษาด้วย pegylated interferon/ribavirin ระยะสั้นลงได้หรือไม่ เพื่อจะได้ประหยัดและลดผลข้างเคียง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

There is limited data of HCV genotype, HCV RNA, IL-28B and liver fibrosis in chronic hepatitis C (HCV) in resource limited settings where affordable treatment is not yet available.

HCV mono and HIV/HCV co-infected patients were enrolled in a prospective cohort study in Bangkok, Thailand. Liver fibrosis was assessed by elastometry (FibroScan). Fibrosis stage was defined as mild (Metavir F0-F1) if stiffness ≤ 7.1 kPa; moderate (F2) if 7.2-9.4 kPa; severe (F3) if 9.5-14 kPa, and cirrhosis (F4) if >14 kPa. 25 hydroxy vitamin D [25 (OH) D] 20-30 ng/ml and <20 ng/ml was defined as vitamin D insufficiency and deficiency, respectively. HCV RNA, Quantification of HCV RNA was done by a real-time PCR assay (Abbott with lower limit of detection of <12 copies/ml). HCV RNA positive samples based on reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) of the 5'UTR were amplified with primer specific for the core and NS5B regions. Nucleotide sequences of both regions were analyzed for the genotype by phylogenetic analysis. DNA sample was extracted from PBMCs or sera. Then SNPs within *IL-28B* gene were detected by TaqMan real-time PCR (rs8099917 and rs12979860). The data were analyzed by allelic discrimination (AD) software on the ABI-7900HT.

A total of 331 HCV mono- and 130 HIV/HCV co-infected Thai patients were enrolled (70% male, 35% IDUs, median age of 43 years old). HCV genotype (GT) distribution was as follows: GT3 47%, GT1 34%, GT6 17%. Prevalence of vitamin D insufficiency was 62.3%. Compared to HCV-mono, HIV/HCV had significantly higher proportion of IDUs (62 % vs 24%), MSM (13% vs 0%) and heterosexual (19% vs 1.6%). For *IL-28B*, 91% were major allele (TT) for rs 8099917 (N=204), and 87% were major allele (CC) for rs 12979860 (N=179).

Overall, 86% of HIV/HCV patients were on ART and their median CD4 count was 494 cells/mm³ and 78% had HIV-RNA <50 copies/ml. In HCV mono: liver fibrosis was mild in 56.5%; moderate in 18.4%; severe in 12.4% and cirrhosis in 12.7%. In HIV/HCV: these figures were 30.6%, 27.8%, 17.6%, and 24.1%, respectively. HCV GT6 had higher HCV RNA but less often liver fibrosis and lower ALT compared to GT 3 and 1. Factors associated with significant fibrosis by multivariate analysis were being HIV-infection (OR 2.67, 95% confidence interval (95%CI) 1.20-5.93), Fib4 score >1.45 (OR 6.30, 95%CI 2.70-14.74), and vitamin D insufficiency (OR 2.48, 95%CI 1.09-5.67). Genotype 6 was negative association to advanced liver fibrosis (OR 0.17, 95%CI 0.05-0.65).

HCV genotype 3 is the most prevalent in our HIV/HCV coinfection and HCV mono. 90% of our patients have favorable *IL-28B* gene. Moderate liver fibrosis ($>F2$) are seen in 70% and 40% of HIV/HCV co-infected and HCV mono-infected patients from Thailand. HIV-infection, Fib4 score >1.45 and vitamin D insufficiency are strong and independent predictors for the presence of advanced fibrosis whereas HCV genotype 6 is correlated with less liver fibrosis. This data has important implications for designing strategies to prioritize access to HCV-treatment in Thailand.

For the group with favorable outcome and having HCV RNA undetectable at week4 after treatment with pegylated interferon and ribavirin, short course strategy of HCV treatment should be further explored.

2. บทนำ

ปัจจุบันการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีด้วยยาต้านไวรัสในประเทศไทยได้ผลดีมาก ทำให้ผู้ป่วยมีชีวิตยืนยาวขึ้น ทำให้พบภาวะที่เกิดจากสาเหตุอื่นที่ไม่ใช่จากภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องจากโรคเอดส์เองหรือที่เรียกว่า non serious AIDS events เพิ่มขึ้น ภาวะนี้รวมถึง โรคตับ โดยเฉพาะผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีที่มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีหรือไวรัสตับอักเสบบีร่วมกับไวรัสตับอักเสบบีหรือไวรัสตับอักเสบบีในคนที่ติดเชื้อเอชไอวีด้วยพบว่าการดำเนินโรคของไวรัสตับอักเสบบีหรือไวรัสตับอักเสบบีมีแนวโน้มจะกลายเป็นตับอักเสบเรื้อรัง และตับแข็งได้มากขึ้นและเร็วขึ้นกว่าในกลุ่มที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวีอย่างชัดเจน ซึ่งจะมีโอกาสกลายเป็นมะเร็งตับได้ประมาณ 1-10 % ต่อปี และจะทำให้เกิดภาวะตับทำงานล้มเหลวตามมาหลังจากพบภาวะตับแข็ง ผู้ป่วยที่ดื่มเหล้าอย่างหนักก็จะเพิ่มความเสี่ยงมากขึ้น นอกจากนี้ในผู้ป่วยกลุ่มนี้ยังมีความเสี่ยงสูง 2-4 เท่าในการเกิดตับอักเสบล้างจากให้ยาต้านไวรัสเอชไอวี

ในประเทศไทยพบอุบัติการณ์ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีรวมกับการติดเชื้อเอชไอวีได้สูงถึง 8-10 % และการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีรวมกับการติดเชื้อเอชไอวีได้ 7-9% การใช้ยาต้านไวรัสเอดส์รักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวีทำให้คุณภาพชีวิตผู้ป่วยดีขึ้นและมีชีวิตยาวนานขึ้นกว่าในอดีต การรักษาการติดเชื้ออื่นร่วมด้วย เช่น ไวรัสตับอักเสบบีหรือซี จึงมีความสำคัญ

อย่างไรก็ตาม ในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาในผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีที่ติดเชื้อเอชไอวีด้วยอย่างจริงจัง ทั้งที่ผู้ป่วยกลุ่มนี้มีโอกาสเกิดโรคตับเรื้อรัง ตับแข็ง และมะเร็งตับสูงขึ้นอย่างชัดเจน และที่สำคัญคือการกระจายเชื้อไวรัสตับอักเสบบีสู่บุคคลอื่น ซึ่งผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีที่ติดเชื้อเอชไอวีด้วยจะทำให้มีโอกาสแพร่เชื้อสูงกว่าผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวี ยกตัวอย่าง เช่น โอกาสที่สามีหรือภรรยาจะรับเชื้อไวรัสตับอักเสบบีทางเพศสัมพันธ์จากอีกฝ่ายหนึ่งน้อยกว่า 5% เช่นเดียวกับการแพร่เชื้อไวรัสตับอักเสบบีจากแม่ไปสู่ลูกในขณะตั้งครรภ์และคลอดได้น้อยกว่า 5% แต่ถ้าสามีหรือภรรยาหรือแม่ที่ตั้งครรภ์มีการติดเชื้อเอชไอวีร่วมด้วยโอกาสการกระจายเชื้อไวรัสตับอักเสบบีไปสู่อีกฝ่ายหนึ่งสูงถึง 30% การรักษาผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงมีประโยชน์ทั้งในแง่ลดหรือชะลอการเกิดโรคตับเรื้อรัง ตับแข็งและมะเร็งตับรวมถึงการลดการกระจายเชื้อไวรัสตับอักเสบบีด้วย

เนื่องจากการรักษาไวรัสตับอักเสบบีมีราคาค่อนข้างสูง และการตอบสนองต่อการรักษาในปัจจุบันยังมีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ สายพันธุ์ และการตรวจพบว่ามีอินเตอร์ลิวคิน 28 โดยพบว่าสายพันธุ์ 2/3 ให้ผลการรักษาต่อ pegylated interferon/ribavirin สูงกว่าสายพันธุ์ 1 และในคนที่ไม่มีอินเตอร์ลิวคิน 28 โอกาสที่จะการรักษาโรคไวรัสตับอักเสบบีให้หายขาดก็จะสูงกว่าในคนที่ไม่มีอย่างชัดเจน ส่วนยาต้านไวรัสตัวใหม่หลายตัวยังอยู่ในระหว่างการศึกษาระยะที่ 2 และระยะที่ 3 ในผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวี พบว่าได้ผลดีมากในสายพันธุ์ 1 ข้อมูลในประเทศไทยพบว่า ในผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวีเป็นสายพันธุ์ 3 มากที่สุดประมาณ 60% ตามด้วย สายพันธุ์ 2 ซึ่งต่างจากประเทศตะวันตกซึ่งพบ สายพันธุ์ 1 มากที่สุดในประเทศไทยเองยังไม่มีข้อมูลสายพันธุ์ของไวรัสตับอักเสบบีในผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีที่ติดเชื้อเอชไอวีด้วย ซึ่งอาจจะเหมือนหรือต่างกับผู้ที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวี ที่สำคัญคือ ในต่างประเทศ พบว่า ผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีที่ติดเชื้อเอชไอวีมีพฤติกรรมแบบชายมีเพศสัมพันธ์กับชายด้วย ซึ่งจะเพิ่มโอกาสรับเชื้อสายพันธุ์อื่นสูงขึ้น

การศึกษานี้จึงต้องการศึกษาการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีอย่างเป็นระบบ ทำให้ทราบอุบัติการณ์ของสายพันธุ์ของไวรัสตับอักเสบบีในผู้ป่วยกลุ่มนี้ การตรวจพบมีอินเตอร์ลิวคิน 28 เพื่อติดตามการดำเนินโรคและนำไปประเมินผลการรักษา นอกจากนั้นจะมีการตรวจปริมาณไวรัสตับอักเสบบี รวมถึงดูการทำงานของตับ การตรวจอัลตราซาวด์ เพื่อดูว่า มีตับแข็งหรือไม่ และดู fibrosis score จาก fibroscan และการตอบสนองต่อยาต้านเอชไอวีตลอดถึงการเกิดตับอักเสบล้างให้ยาต้านไวรัสเอดส์ข้อมูลต่างๆเหล่านี้จะมีความสำคัญในการดูแลผู้ป่วยและการวางแผนในระดับประเทศต่อไปว่ามีผู้ป่วยโดยประมาณกี่เปอร์เซ็นต์ที่ต้องการการรักษา รวมถึงถ้าจะมีการศึกษาการรักษาไวรัสตับอักเสบบีในประเทศไทยในอนาคต เช่นถ้าพบว่ามีสาย

พันธุ 3 และ interleukin 28 มากก็อาจจะวางแผนศึกษาการใช้ยารักษาไวรัสตับอักเสบบีในระยะสั้นลงหรือให้ขนาดยาต่ำลง เพื่อให้การรักษาครอบคลุมมากที่สุด ซึ่งถ้าลดอัตราการเกิดตับแข็งและมะเร็งตับได้ จะทำให้คุณภาพชีวิตของผู้ป่วยกลุ่มนี้ดีขึ้นและลดภาระค่าดูแลของผู้ป่วย เจ้าหน้าที่สาธารณสุข และลดงบประมาณในการดูแลรักษาเรื่องตับแข็งและมะเร็งตับลงอย่างมาก เพราะผู้ป่วยตับแข็งจะมีผลข้างเคียงหลายอย่าง เช่น เลือดออกในทางเดินอาหารจากเส้นเลือดในหลอดอาหารโป่งพอง การติดเชื้อต่างๆ ได้ง่าย โดยเฉพาะน้ำในช่องท้อง มีอาการท้องมานต้องมาดูดน้ำออกบ่อยๆ อาการซึมหรือโคม่าจากของเสียคั่ง หรือถ้ากลายเป็นมะเร็งตับอาจจะต้องมีการผ่าตัดหรือให้เคมีบำบัด หรือถ้าเกิดภาวะตับทำงานล้มเหลว อาจจะต้องการการถ่ายเปลี่ยนตับ ซึ่งภาวะต่างๆ เหล่านี้จะเพิ่มค่าใช้จ่ายทางด้านสาธารณสุขของประเทศเป็นอย่างมาก

3. การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis C virus, HCV) เป็นเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคตับอักเสบนานเรื้อรัง (chronic hepatitis) ซึ่งอาจมีการดำเนินของโรคต่อไปเป็นตับแข็ง (cirrhosis) และมะเร็งตับ (hepatocellular carcinoma) และเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญของผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี เนื่องจากเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและเอชไอวีสามารถติดต่อได้โดยทางเดียวกัน ดังนั้นจึงพบมีการติดเชื้อทั้งสองชนิดนี้ในคนเดียวกันได้บ่อย (HCV/HIV co-infection) โดยเฉพาะในคนที่ใช้ยาเสพติดแบบเข้าเส้น โดยมีความชุกแตกต่างกันตามแถบทวีปต่าง ๆ ทั่วโลกโดยพบว่า ผู้ติดเชื้อเอชไอวีในแถบยุโรปร้อยละ 50-70 มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีร่วมด้วย [1, 2] ส่วนในเอเชียแปซิฟิก พบประมาณ 10.4% [3] ในประเทศไทยพบอุบัติการณ์ของการติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับไวรัสตับอักเสบบีประมาณร้อยละ 8-11 [4-6] ทั้งๆ ที่มีการตรวจเลือดประมาณร้อยละ 50-60 ถ้ามีการตรวจเลือดทุกคน ก็อาจจะพบอุบัติการณ์สูงกว่านี้ ถ้าดูเฉพาะผู้ป่วยที่ใช้ยาเสพติดเข้าเส้นจะพบว่าอุบัติการณ์ของการพบไวรัสตับอักเสบบีในผู้ป่วยเอชไอวีสูงถึง 95-100% ทั้งในประเทศไทย [7, 8] และประเทศจีน [9]

ข้อมูลของกองระบาดวิทยาพบว่าในบรรดาผู้ป่วยที่นอนโรงพยาบาลจากสาเหตุของตับอักเสบบีในปี 2008 จำนวน 10,496 คนเป็นจากไวรัสตับอักเสบบี 1,357 คน (13%) ซึ่งจำนวนเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ นับจากปี 1999 เป็นต้นมา [10] ปัจจุบันผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีมีอัตราการรอดชีวิตสูงขึ้นและมีชีวิตอยู่ยืนยาวขึ้น จากผลของยาต้านไวรัสซึ่งมีประสิทธิภาพสูง (HAART, highly active antiretroviral therapy) ทำให้ผู้ป่วยเหล่านี้มีโอกาสต่อการเกิดพิษต่อตับหลังได้รับยา HAART และเสียชีวิตจากผลข้างเคียงทางตับหรือเป็นมะเร็งตับ ดังนั้นไวรัสตับอักเสบบีและโรคตับที่เกี่ยวข้องจึงยังคงเป็นปัญหาสำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุขของประเทศไทย

ในคนที่ติดเชื้อเอชไอวีพบว่า การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีมีแนวโน้มจะกลายเป็นตับอักเสบนานเรื้อรังและตับแข็งได้มากขึ้นและเร็วขึ้นกว่าในกลุ่มที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวี ซึ่งจะมมีโอกาสกลายเป็นมะเร็งตับได้และจะทำให้เกิดภาวะตับทำงานล้มเหลวตามมาหลังจากพบภาวะตับแข็ง ผู้ป่วยที่ดื่มเหล้าอย่างหนักก็จะเพิ่มความเสี่ยงมากขึ้น นอกจากนี้ในผู้ป่วยกลุ่มนี้ยังมีความเสี่ยงสูง 2-4 เท่าในการเกิดตับอักเสบบีหลังจากให้ยาต้านไวรัสเอชไอวี [11]

ผลของการติดเชื้อ HIV ต่อการดำเนินโรคของไวรัสตับอักเสบบี ผู้ป่วยกลุ่มที่ติดเชื้อเอชไอวีจะมีการดำเนินโรคของตับอักเสบบี ที่แตกต่างจากผู้ป่วยกลุ่มที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวีดังนี้

1. หลังจากเกิด acute HCV infection ผู้ป่วยมีอัตราการ clearance ของ HCV ได้น้อยกว่า โดยเฉพาะในผู้ที่มี CD4 < 200 cells/mm³ ทำให้มีโอกาสมากขึ้นที่จะกลายเป็น chronic HCV infection มากกว่าผู้ที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวี (ร้อยละ 90 เทียบกับร้อยละ 70-85)
2. มีการแบ่งตัวของเชื้อมากกว่า 10^{11} virions ต่อวันโดยเฉพาะในผู้ที่มี CD4 < 200 cells/mm³ [12] ทำให้ตรวจพบระดับปริมาณ HCV RNA ในเลือดสูงกว่าผู้ที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวี [13, 14]
3. มีโอกาสแพร่กระจายเชื้อไวรัสตับอักเสบบีสูงขึ้น โดยพบว่าโอกาสที่สามีหรือภรรยาจะรับเชื้อไวรัสตับอักเสบบีทางเพศสัมพันธ์จากอีกฝ่ายหนึ่งน้อยกว่า 5% เช่นเดียวกับการแพร่เชื้อไวรัสตับอักเสบบี จากแม่ไปสู่ลูก

ในขณะที่ตั้งครรภ์และคลอดได้น้อยกว่า 5% แต่ถ้าสามีหรือภรรยาหรือแม่ที่ตั้งครรภ์มีการติดเชื้อเอชไอวีร่วมด้วย โอกาสกระจายเชื้อไวรัสตับอักเสบบีไปสู่อีกฝ่ายหนึ่งสูงขึ้นถึง 3-5 เท่า [15]

ผลของการติดเชื้อ HIV ต่อการเกิดตับอักเสบริ้วของไวรัสตับอักเสบบี

1. เนื่องจากมีปริมาณ HCV ที่สูงกว่า ส่งผลให้เกิดโรคตับระยะสุดท้าย (end-stage liver disease) และ/หรือตับแข็งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในผู้ป่วยติดเชื้อ chronic hepatitis C ที่มี HIV ร่วมด้วยเปรียบเทียบกับผู้ป่วยติดเชื้อ chronic hepatitis C ที่ไม่มี HIV โดยพบว่าการเกิดตับแข็งเพิ่มขึ้น 2 เท่าและ เกิดตับวายเพิ่มขึ้น 6 เท่า [16] ในผู้ป่วย HIV/HCV co-infected patients ซึ่งปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิด liver disease progression ในผู้ป่วยที่มีทั้ง HIV และ HCV ได้แก่ กินเหล้าหนัก ได้รับเชื้อ HCV อายุ >25 ปี, CD4 < 200-250 cells/mm³ [17, 18] สาเหตุอื่น เช่น HCV quasispecies, [19] occult HBV [20, 21] และการเกิดตับอักเสบบีจากการได้ยาต้าน [21] ที่สำคัญคือจากการตรวจ liver biopsy ในคนที่มีเอนไซม์ตับปกติ พบการเกิด liver fibrosis สูงถึง 30% [22] ดังนั้นในผู้ป่วย HIV/HCV co-infected patients ถึงแม้จะมีเอนไซม์ตับปกติก็บอกไม่ได้ว่าไม่มี liver fibrosis
2. ในผู้ป่วย HIV/HCV co-infected patients ที่เป็นตับแข็งจะมีความเสี่ยงสูงมากในการเกิดตับวายหรือการทำงานของตับล้มเหลว ซึ่งสูงกว่าในผู้ป่วยที่เป็นไวรัสตับอักเสบบีอย่างเดียวโดยที่ไม่มีเอชไอวีร่วมด้วย ยิ่งกว่านั้นอัตราการตายในผู้ป่วย HIV/HCV co-infected patients สูงมากหลังจากเกิด liver decompensation [23, 24] ถึงแม้ผู้ป่วยจะได้รับยาต้านและมี CD4 อยู่ในระดับที่ดีแล้วก็ตาม [25]
3. ในผู้ป่วย HIV/HCV co-infected patients ที่เป็นตับแข็งจะมีความเสี่ยงสูงมากในการเกิดมะเร็งตับเมื่อเทียบกับ HCV monoinfected patients โดยพบในอายุน้อยกว่า ระยะเวลาติดเชื้อน้อยกว่าและการดำเนินโรคเร็วกว่า [26]

ผลของการให้ยาต้านไวรัสเอดส์ต่อการเกิดตับอักเสบบีของผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีร่วมกับเอชไอวี

ผู้ป่วย HIV/HCV co-infected patients เพิ่มความเสี่ยงของการเกิดตับอักเสบบีหลังจากได้ยาต้านไวรัสเอดส์ถึง 2-4 เท่า [11] แต่การศึกษาหลายการศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่ได้ยาต้านไวรัสเอดส์โดยเฉพาะกลุ่ม Protease inhibitor ลดการเกิด fibrosis progression [27-29]

ผลของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีต่อการเกิด HIV Disease progression และการตอบสนองต่อยาต้านไวรัสเอดส์

โดยสรุปการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีไม่มีผลต่อการเกิด HIV Disease progression และการตอบสนองต่อยาต้านไวรัสเอดส์ [2, 30]

แนวทางการรักษาคนไข้ที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับไวรัสตับอักเสบบี

แนวทางการรักษารักษาปัจจุบัน [31] ให้เริ่มยาต้านไวรัสเอดส์ที่ CD4 < 350 cells/mm³ และถ้าผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีหรือไวรัสตับอักเสบบี แนะนำให้เริ่มยาต้านเร็วขึ้นเพราะผู้ป่วยกลุ่มนี้มีความเสี่ยงสูงในการเกิด liver related mortality/morbidity ซึ่ง European AIDS guideline เดือนพฤศจิกายน 2012 [32] แนะนำให้ผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีหรือไวรัสตับอักเสบบีเริ่มยาต้านที่ CD4 < 500 cells/mm³ หรือสูงกว่าถ้าไวรัสตับอักเสบบีหรือไวรัสตับอักเสบบีจำเป็นต้องได้รับการรักษา และ ผู้ป่วย HIV/HCV coinfection ทุกคนควรได้รับการรักษาสำหรับ HCV ด้วยยา Pegylated interferon ร่วมกับ ribavirin ซึ่งผู้ป่วยแต่ละคนให้การตอบสนองต่อการรักษาไม่เหมือนกันผู้ป่วย HIV/HCV coinfection ให้การตอบสนองต่อการรักษาต่ำกว่า HCV mono infection ประมาณ 10-20% และการตอบสนองต่อการรักษาโดยดูจาก SVR (HCV undetectable หลังหยุดการรักษาที่ 6

เดือน จะขึ้นกับ genotype ของ HCV โดย 14-38% สำหรับ HCV genotype 1 / 4 และ 44-73% สำหรับ HCV genotype 2/3 [33-36]

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการรักษา

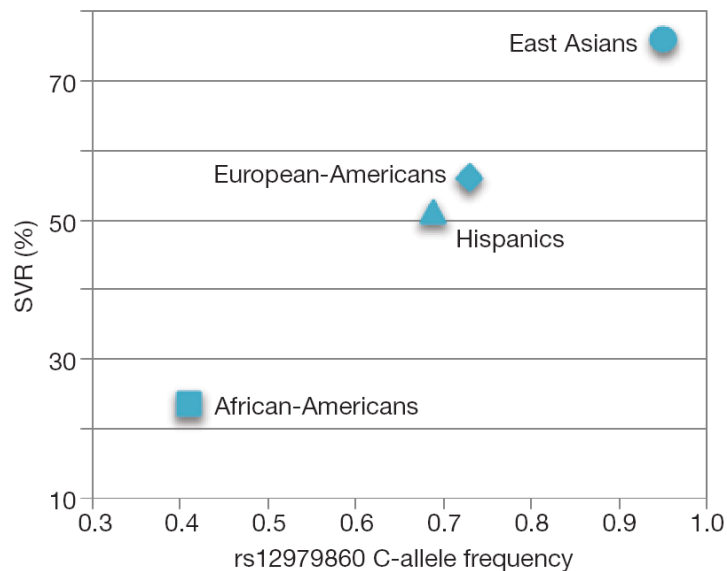
ปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีว่าปัจจัยของเชื้อไวรัส (viral factors) บางอย่างเช่น HCV genotype, baseline viral load, viral kinetics ระหว่างการรักษาและลักษณะของกรดอะมิโนบางอย่างในส่วน of interferon sensitivity-determining region (ISDR) [38,39] รวมทั้งปัจจัยของผู้ป่วย (host factors) เช่น อายุ เพศ เชื้อชาติและความรุนแรงของโรคตับของผู้ป่วย มีส่วนเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา PEG-IFN/RBV อย่างไรก็ตามปัจจัยทางพันธุกรรมของผู้ป่วย (host genetic factors) ที่มีผลต่อการรักษาได้มีการศึกษาค่อนข้างน้อย ก่อนหน้านี้มีรายงานการศึกษาในผู้ป่วยจำนวนไม่มากพบว่ายีนบางอย่างของผู้ป่วย เช่น encoding type 1 interferon receptor-1 (*IFNAR1*) [40] และ mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 3 (*MAPKAPK3*)⁴¹ อาจมีความเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการรักษา ข้อมูลที่น่าสนใจในปี 2552 จากหลายรายงานซึ่งทำการศึกษากลุ่มผู้ป่วยหลายเชื้อชาติจำนวนหลายพันคนมีผลสรุปที่สอดคล้องกัน โดยพบว่าลักษณะความผันแปรทางพันธุกรรม (genetic variation) ของยีน interleukin-28B (*IL28B*) ซึ่งอยู่บนโครโมโซมที่ 19 มีส่วนเกี่ยวข้องอย่างชัดเจนกับการตอบสนองต่อการรักษาผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ HCV genotype 1 ซึ่งอาจนำมาใช้เป็นตัวทำนายผลการรักษา (predictor of treatment response) ได้ในอนาคต

***IL28B* polymorphism และการตอบสนองต่อการรักษาไวรัสตับอักเสบซี**

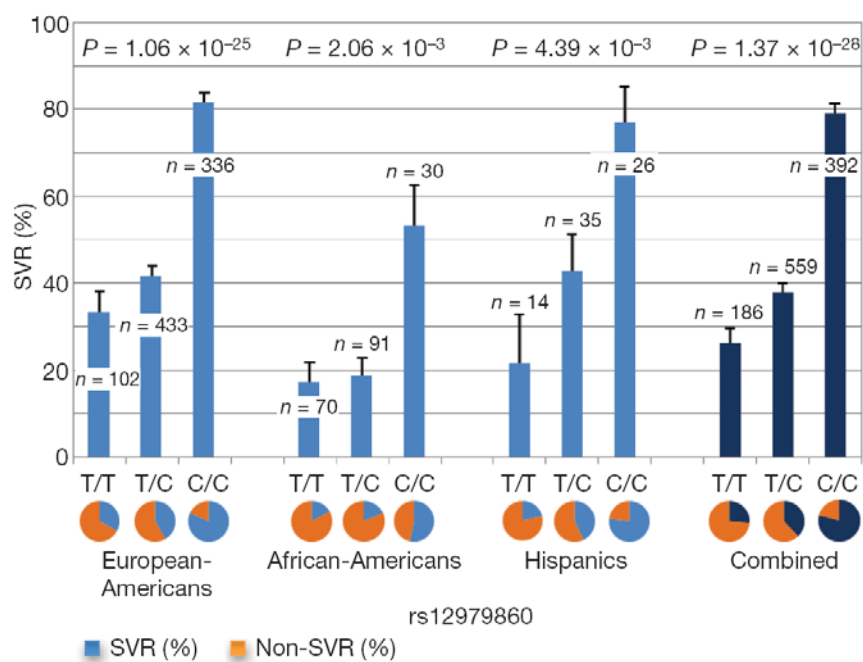
Suppiah et al,⁴² Tanaka et al. [43] และ Ge et al. [44] ทำการศึกษาและตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสาร Nature Genetics และ Nature ในระยะเวลาใกล้เคียงกัน โดยเป็นการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับ genome-wide association studies (GWAS) ในกลุ่มประชากรต่างๆที่มีการติดเชื้อ HCV genotype 1 ข้อมูลที่สำคัญจากการศึกษาดังกล่าวพบว่า single nucleotide polymorphisms (SNPs) ในส่วนของ *IL28B* gene มีความสัมพันธ์กับ SVR ที่เกิดจากการรักษาด้วยยา PEG-IFN/RBV โดย Suppiah et al. และ Tanaka et al. ซึ่งทำการศึกษากลุ่มประชากรของประเทศทางตะวันตกจำนวน 555 คนและประเทศญี่ปุ่นจำนวน 314 คนตามลำดับ พบว่า variants ของยีน rs8099917 (ซึ่งอยู่ประมาณ 8 kb ทางด้าน upstream ของ *IL28B*) มีความสัมพันธ์กับการเกิด SVR ของผู้ป่วยมากที่สุดเมื่อเทียบกับยีนในตำแหน่งอื่นๆ [43,44] ในทำนองเดียวกัน Ge et al [45] ซึ่งศึกษา GWAS ในผู้ป่วยมากกว่า 1,600 คนจาก IDEAL study (ซึ่งเป็นการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่าง PEG-IFN α -2a/RBV และ PEG-IFN α -2b/RBV ในการรักษาผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ HCV genotype 1) พบว่า variants ของยีน rs12979860 (ซึ่งอยู่ประมาณ 3 kb ทางด้าน upstream ของ *IL28B*) มีความสัมพันธ์กับการเกิด SVR ของผู้ป่วยมากที่สุด [37] โดยการศึกษาพบว่ากลุ่ม European-Americans ที่มี genotype ของยีนดังกล่าวชนิด CC genotype มีความสัมพันธ์กับ SVR มากกว่า TT genotype ประมาณ 2 เท่า (95% confidence interval 1.8-2.3) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของกลุ่ม African-Americans (ประมาณ 3 เท่า; 95% CI 1.9-4.7) และกลุ่ม Hispanics (ประมาณ 2 เท่า; 95% CI 1.4-3.2) (รูปที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบ host genetic factor นี้กับ conventional clinical parameters อื่นๆที่เกี่ยวข้องกับ SVR เช่น HCV genotype 1, baseline viral load, hepatic fibrosis และเชื้อชาติ (ethnicity) พบว่า *IL28B* polymorphism มีค่า odds ratio สูงกว่า parameters อื่นๆ [37] แสดงว่า host genotype เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านไวรัส

ความสัมพันธ์ระหว่าง *IL28B* polymorphism และการตอบสนองต่อการรักษา ยังสามารถอธิบายความแตกต่างของการตอบสนองต่อการรักษาในประชากรกลุ่มต่างๆได้เป็นอย่างดี จากข้อมูลการศึกษาก่อนหน้านี้ซึ่งเป็นที่ทราบกันเป็นอย่างดีว่าประชากรกลุ่ม East Asians ที่มีการติดเชื้อ HCV genotype 1 มักมีการตอบสนองต่อ

การรักษาด้วยยา PEG-IFN/RBV ดีกว่าประชากรกลุ่มอื่นๆ [38] ทั้งนี้อาจเนื่องจากประชากรในกลุ่มนี้มีความชุกของ C-allele ของ *IL28B* gene สูงสุดเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ รองลงมาคือกลุ่ม European-Americans และ Hispanics ตามลำดับ ส่วน African-Americans มีความชุกของ C-allele ต่ำที่สุดซึ่งอาจทำให้มีอัตราของการตอบสนองต่อการรักษาต่ำกว่าประชากรกลุ่มอื่นๆ (รูปที่ 2) [45,46] นอกจากนี้ยังมีข้อสังเกตจากผลการศึกษาในรูปที่ 1 ว่า ประชากรกลุ่ม African-Americans ที่มี CC genotype ของ *IL28B* มีการตอบสนองต่อการรักษาดีกว่าประชากรกลุ่ม European-Americans ที่มี TT genotype (ร้อยละ 53.3 เทียบกับร้อยละ 33.3 ตามลำดับ; $P<0.05$) [45] ข้อมูลเหล่านี้สนับสนุนว่า *IL28B* polymorphism น่าจะมีบทบาทสำคัญกว่าความแตกต่างของเชื้อชาติในการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา PEG-IFN/RBV ในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ HCV genotype 1



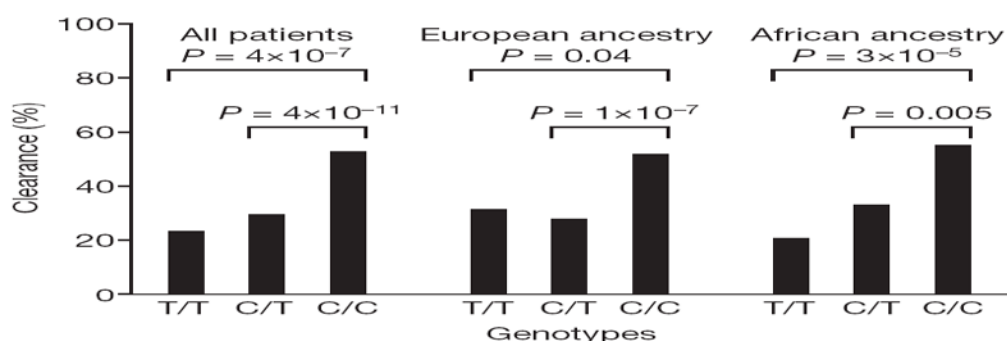
รูปที่ 1 ร้อยละของการเกิด SVR โดยแบ่งตาม genotype ของ rs12979860 ในกลุ่มประชากรต่างๆ



รูปที่ 2 อัตราการเกิด SVR และ rs12979860 ในประชากรกลุ่มต่างๆ

IL28B polymorphism กับ การหายเองของไวรัสตับอักเสบซี

Thomas et al [47] ได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความผันแปรทางพันธุกรรมของ *IL28B* กับ การดำเนินโรคของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีในกลุ่มประชากรกว่าพันคนที่เชื้อสายยุโรปหรือแอฟริกา ซึ่งในจำนวนนี้มี 388 คนที่การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีหายได้เอง (spontaneous clearance) ส่วนอีก 620 คนมีการติดเชื้อแบบเรื้อรัง การศึกษาพบว่าผู้ที่มี allele ของ rs12979860 แบบ C/C genotype มีโอกาสหายได้เองสูงสุดทั้งไม่ว่าจะมีเชื้อสายยุโรปหรือแอฟริกา ในทางตรงกันข้ามผู้ที่มี T/T genotype มีโอกาสหายได้เองต่ำที่สุด (รูปที่ 3) ข้อมูลเหล่านี้สอดคล้องกับการศึกษาจาก Swiss Hepatitis C Cohort Study (SCCS) และ Swiss HIV Cohort Study (SHCS) เมื่อเร็ว ๆ นี้ [48] กล่าวโดยสรุปข้อมูลจากการศึกษาเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า *IL28B* polymorphism ของผู้ติดเชื้อมีส่วนสำคัญต่อการดำเนินของโรคอย่างชัดเจน



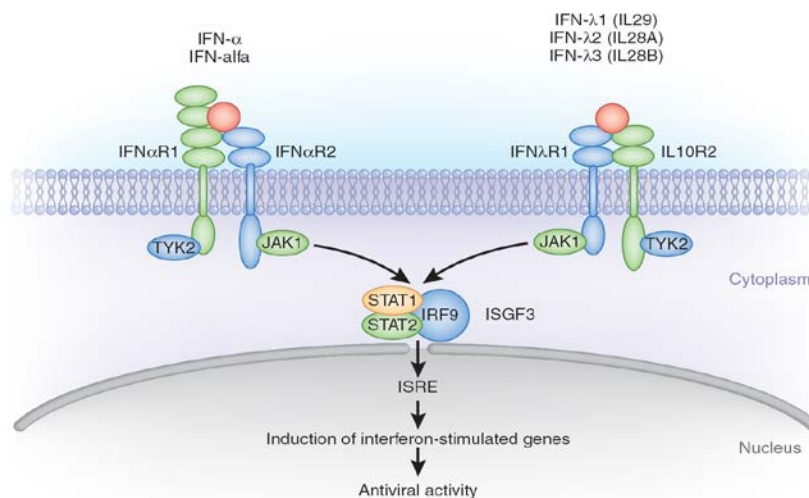
รูปที่ 3 ร้อยละของการหายได้เองจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีโดยแบ่งตาม genotype ของ rs12979860

IL28B and signaling pathways

IL28B gene ทำหน้าที่สร้างโปรตีน interleukin-28B หรือที่เรียกอีกอย่างว่า interferon- $\lambda 3$ ส่วน *IL28A* และ *IL29* ซึ่งอยู่ใกล้กับ *IL28B* บนโครโมโซมที่ 19 ทำหน้าที่สร้างโปรตีน interferon- $\lambda 2$ และ interferon- $\lambda 1$ ตามลำดับ interferon- λ (หรือ type III interferon) ทั้งสามชนิดนี้พบได้บ่อยใน antigen presenting cells เช่น macrophage และ dendritic cells โดยมีความคล้ายคลึงกัน (homology) ประมาณร้อยละ 96 และทั้งหมดออกฤทธิ์ผ่าน heterodimeric receptor เดียวกันคือ IL10R2 และ IL28R α (IFN λ R1) ซึ่งพบได้ที่ hepatocytes มากกว่าเซลล์อื่นๆที่อยู่ในตับ โดย receptor แรกมีการใช้ร่วมกับ cytokines ชนิดอื่นๆ ส่วน receptor หลังมีความจำเพาะเจาะจงกับ interferon- λ ทั้งสามชนิดนี้^{49,50}

Interferons เป็น cytokines ที่สร้างจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายในการตอบสนองต่อเชื้อไวรัสชนิดต่างๆ ในปัจจุบันมีการนำ interferon- α (หรือ type I interferon) ซึ่งเป็นต้นแบบ (prototype) ของกลุ่ม interferons มาใช้ในการรักษาโรคตับอักเสบเรื้อรังจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซี interferon- α และ interferon- λ กระตุ้นผ่าน signaling เดียวกันคือ JAK1-STAT pathway แต่มี receptor ที่แตกต่างกัน (รูปที่ 2) [39] เมื่อมีการกระตุ้น JAK1-STAT pathway จะมีการกระตุ้น interferon-stimulated genes หลายชนิดซึ่งทำหน้าที่ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัส การศึกษาแบบ in vitro แสดงให้เห็นว่า interferon- λ ถูกกระตุ้นเมื่อมีการติดเชื้อไวรัสหรือถูกกระตุ้นจาก interferon ชนิดอื่นๆ[40] การศึกษาแบบ in vitro พบว่าฤทธิ์ในการยับยั้งไวรัสตับอักเสบซีเพิ่มมากขึ้นเมื่อมี interferon- α และ interferon- λ ทั้งสองชนิดร่วมกัน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า interferon- α และ interferon- λ ออกฤทธิ์ร่วมกันในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนไวรัสตับอักเสบซี[41] เนื่องจาก interferon- λ มีกลไกการออกฤทธิ์ที่ใกล้เคียงกับ interferon- α แต่มี tissue specific มากกว่า ดังนั้นผลข้างเคียงของการใช้ยาอาจน้อยกว่า interferon- α ผลจากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า interferon- λ สามารถ

ยับยั้งการเพิ่มจำนวนไวรัสตับอักเสบซีได้เช่นเดียวกัน ดังนั้นในอนาคตอาจมีการนำ interferon- α และ interferon- λ มาใช้ร่วมกันในการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อเรื้อรังจากไวรัสตับอักเสบซี ซึ่งอาจทำให้มีประสิทธิภาพสูงกว่าการรักษาที่ใช้ในปัจจุบัน



โดยสรุปในประเทศไทย พบว่า genotype 3 พบมากที่สุด (40-74%) [8, 42] ใน HCV mono-infection แต่ไม่มีข้อมูลใน HIV/HCV co-infection ซึ่งอาจจะเหมือนหรือแตกต่างกับ HCV mono-infection เพราะผู้ป่วย HIV/HCV co-infection บางคนมีพฤติกรรมชายมีเพศสัมพันธ์กับชายด้วยซึ่งอาจจะรับ HCV genotype 1 มาจากประเทศอื่น เช่น ยุโรป ออสเตรเลีย หรือจีนเอง เนื่องจากการดำเนินโรค (fibrosis progression) เร็วกว่าในผู้ป่วย HIV/HCV co-infection เมื่อเทียบกับ HCV mono-infection การรักษาในผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงมีความสำคัญ ข้อมูลส่วนใหญ่ได้มาจากชาวตะวันตกซึ่งเป็น genotype 1 มากที่สุด ปัญหาสำหรับประเทศไทยคือราคาของยารักษาไวรัสตับอักเสบซีสูงมาก ดังนั้นเพื่อวางแผนการรักษาในอนาคตให้ มีความคุ้มค่า (cost effectiveness) จึงควรมีการศึกษาในแง่ระบาดวิทยาก่อนว่า รูปแบบ hepatitis C genotype ในผู้ป่วยไทยที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเป็นอย่างไร มี ผู้ป่วยกลุ่มนี้มากน้อยเท่าใดที่จำเป็นต้องได้รับการรักษาและนอกจากค่ารักษายังมีราคาแพงมากแล้ว การรักษาอาจมีผลข้างเคียงต่างๆพอสมควร ดังนั้นการคัดเลือกผู้ป่วยที่เหมาะสมซึ่งคาดว่าจะตอบสนองต่อการรักษาจึงมีส่วนสำคัญที่ทำให้การรักษามีประสิทธิภาพและได้ประโยชน์สูงสุด

4. ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

4.1 คำถามวิจัยและวัตถุประสงค์ของการวิจัย

คำถามวิจัยหลัก

ไวรัสตับอักเสบบีในกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อร่วมกับการติดเชื้อเอชไอวีในประเทศไทยมีสายพันธุ์และการดำเนินโรคแตกต่างจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีอย่างเดียวและกลุ่มผู้ติดเชื้อร่วมดังกล่าวมีปัจจัยบวกที่สำคัญต่อการดำเนินโรคและผลการรักษาหรือไม่ อย่างไรโดยเฉพาะการพบยีน IL-28b

คำถามรองของงานวิจัยนี้ ได้แก่

ภาวะแทรกซ้อนจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีร่วมกับการติดเชื้อเอชไอวีในประเทศไทยโดยดูจากผลการตรวจการทำงานของตับและการตรวจ Fibroscan

วัตถุประสงค์หลัก

1. เพื่อศึกษาความชุกและความสำคัญของ HCV genotypes และยีนอินเทอร์ลิวคิน 28 บี ในผู้ป่วยไทยที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและเปรียบเทียบกับผู้ป่วยเชื้อไวรัสตับอักเสบบีอย่างเดียว

วัตถุประสงค์รอง

1. เพื่อศึกษาการดำเนินโรคโดยดูจาก fibrosis score จากการทำ Fibroscan ในผู้ป่วยไทยที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและเปรียบเทียบกับผู้ป่วยเชื้อไวรัสตับอักเสบบีอย่างเดียว

2. เพื่อศึกษาความเสี่ยงในการเกิดตับอักเสบบีหลังให้ยาต้านไวรัสเอชไอวีในผู้ป่วยไทยที่เป็นไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังที่ติดเชื้อเอชไอวี โดยเปรียบเทียบกับผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีที่ไม่มีไวรัสตับอักเสบบีหรือซีที่ติดตามการรักษาอยู่ใน long term cohort

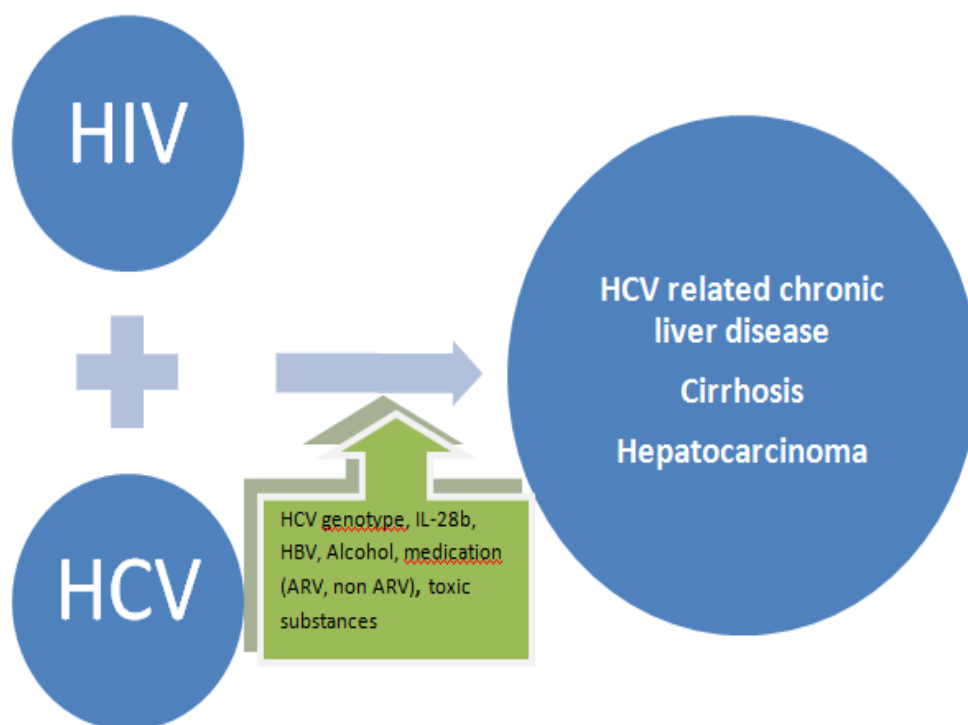
3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง HCV genotype ชนิดต่างๆ และปริมาณ HCV RNA กับ การเกิด liver fibrosis โดยการตรวจ fibroscan หรือการเกิดตับแข็งโดยการตรวจอัลตราซาวด์

4.2 ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาอุบัติการณ์ของไวรัสตับอักเสบบีสายพันธุ์ต่างๆ ยีนอินเทอร์ลิวคิน 28 บี ปริมาณไวรัสตับอักเสบบีการเกิดตับแข็ง การเกิด liver fibrosis ในผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์และศูนย์วิจัยโรคเอดส์สภากาชาดไทย

4.3 ทฤษฎี สมมติฐาน และหรือกรอบแนวความคิดของการวิจัย

กรอบแนวคิดในการทำวิจัย (Conceptual framework)



4.4 กลุ่มประชากรที่ศึกษา ผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับไวรัสตับอักเสบซีที่มารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์และศูนย์วิจัยโรคเอดส์ สภากาชาดไทย จำนวนรวมทั้งหมด 130 คน และจะมีการเปรียบเทียบข้อมูลกับผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวีที่มารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์จำนวนประมาณ 331 คน (มีข้อมูลส่วนนี้อยู่แล้ว ซึ่งเป็นผู้ป่วยที่ติดตามการดูแลรักษาโดยรองศาสตราจารย์นายแพทย์พิสิฐ ตั้งกิจวานิชย์)

4.5 กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยเข้ามศึกษา (Inclusion criteria)

- ก. ผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีที่มารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์และศูนย์วิจัยโรคเอดส์ สภากาชาดไทย
- ข. มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี (antiHCV)
- ค. เพศหญิงหรือเพศชาย อายุ 18-70 ปี

4.6 กฎเกณฑ์ในการตัดผู้ป่วยออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

- ก. ไม่เข้าใจและไม่ยินยอมเข้าร่วมโครงการ

4.7 วิธีการ

การศึกษานี้จะตรวจคัดกรองจากอาสาสมัครจากผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีที่ติดตามการรักษาที่ศูนย์วิจัยโรคเอดส์ต่อเนื่อง ซึ่งเป็น prospective long term cohort ที่เรียกว่า HIV-NAT 006 (ผู้ป่วยในโครงการนี้มาตรวจต่อเนื่องตั้งแต่ปี 2539 จนถึงปัจจุบัน ใน cohort นี้มีการรับยาต้านทุก 3 เดือนและ การตรวจร่างกาย เจาะเลือด ตรวจ CD4, HIV RNA, Lipid profiles, creatinine, liver function test ผลข้างเคียงที่เกิดขึ้น ยาต้านและยาอื่นๆที่ใช้ร่วมกัน ทุก 6 เดือน) ผลตรวจการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีหรือซีทางน้ำเหลืองจะถูกเก็บไว้ใน electronic database ซึ่ง ณ ปัจจุบันมีจำนวนผู้ป่วยทั้งหมด 1,500 คน คาดว่าจะมีผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและเข้าร่วมโครงการนี้ประมาณ 100 คน

สำหรับกลุ่มผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีจะใช้นั้นจะใช้ข้อมูลจากการติดตามอาสาสมัครที่อยู่ในโครงการของหน่วยโรคทางเดินอาหารและโรคตับ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งปัจจุบันมีอาสาสมัครติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีอย่างต่อเนื่องโดยไม่ติดเชื้อเอชไอวีประมาณ 200 คน ซึ่งโครงการนี้จะคัดเลือกอาสาสมัครจาก HIV cohort ก่อนแล้วไปจับคู่กับไวรัสตับอักเสบบีอย่างต่อเนื่อง เช่น เพศและอายุใกล้เคียงกัน

หลังจากอธิบายรายละเอียดในเอกสาร informed consent และอาสาสมัครผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีและไวรัสตับอักเสบบีได้เซ็นชื่อเข้าร่วมโครงการแล้ว อาสาสมัครแต่ละคนจะได้รับการตรวจดังนี้

1. ซักประวัติทั้งทางด้านเอชไอวี (เน้นเฉพาะผู้ที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วม) และไวรัสตับอักเสบบี ไวรัสตับอักเสบบี การใช้ยาต่างๆ รวมถึงแอลกอฮอล์ และการตรวจร่างกาย
 2. การตรวจHCV genotype
 - ก. เก็บตัวอย่างเลือดจำนวน 5 ซีซีจากอาสาสมัครโดยใช้หลอดเก็บเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดเพื่อทำการเก็บ serum
 - ข. เก็บ serum ที่แยกได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อใช้ในการตรวจ HCV genotype โดยใช้ HCV genotype kits (Abbott RealTime HCV Genotype II หรือ 5'UTR and NS5A gene amplification ต่อไป
 3. การตรวจHCV RNA
 - ก. เก็บตัวอย่างเลือดจำนวน 5 ซีซีจากอาสาสมัครโดยใช้หลอดเก็บเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดเพื่อทำการเก็บ serum
 - ข. เก็บ serum ที่แยกได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อใช้ในการตรวจHCV RNA โดยใช้วิธี PCR ต่อไป
 4. การตรวจการทำงานของตับ โดยเก็บตัวอย่างเลือดจำนวน 7 ซีซีจากอาสาสมัครโดยใช้หลอดเก็บเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดเพื่อทำการเก็บ serum และส่งตรวจ liver enzyme (SGOT/SGPT), albumin, bilirubin
 5. การตรวจจำนวนเกร็ดเลือดโดยเก็บตัวอย่างเลือดจำนวน 3 ซีซี
 6. การตรวจความยืดหยุ่นของตับ โดยวิธี fibroscan
 7. การตรวจ u/s abdomen
 8. การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจ SNPs ของยีน IL28B
- เก็บตัวอย่างเลือด 10 มิลลิลิตรจากผู้ป่วย ปั่นแยกซีรั่มและเซลล์เม็ดเลือดขาว (PBMC) แล้วแช่แข็งเก็บไว้ที่ -70 °C และในไนโตรเจนเหลวตามลำดับ

การตรวจ SNPs ของยีน IL28B ซึ่งจะกระทำที่ศูนย์ความเป็นเลิศทางด้านไวรัส คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยการดูแลของรองศาสตราจารย์นายแพทย์พิสิฐ ตั้งกิจวานิชย์

- ทำการสกัดดีเอ็นเอของผู้ป่วยด้วยชุดสกัด QIAamp DNA Blood Mini kit (QIAGEN SCIENCES, Maryland)
- เพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในบริเวณ rs8103142 และ rs11881222 ในบริเวณยีน IL28B บนโครโมโซม 19 ด้วยวิธี PCR (ตามตารางที่ 1)
- ทำการหาลำดับเบสในบริเวณยีน IL28B เพื่อวิเคราะห์หาจีโนไทป์ของ SNPs ต่อไป

4.8 การรวบรวมข้อมูล

ผู้วิจัยจะบันทึกข้อมูลผู้ป่วยตั้งแต่ช่วงเข้ารับการรักษาที่ศูนย์ประสานความร่วมมือระหว่างไทย ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ เพื่อการศึกษาวิจัยทางคลินิกด้านโรคเอดส์ (ฮีฟแนท) ศูนย์วิจัยโรคเอดส์ สภากาชาดไทยจนสิ้นสุดการวิจัย ลงในแบบฟอร์มการบันทึกข้อมูล (Case Report Form) ทั้งนี้จะเก็บรวบรวมข้อมูลไว้ที่สถานที่ทำการวิจัย

4.9 การวิเคราะห์ข้อมูล

ตัวชี้วัดหลัก

สัดส่วนของผู้ป่วยที่มี HCV genotype ต่างๆ

สัดส่วนของผู้ป่วยที่มี IL 28 polymorphism

ตัวชี้วัดรอง

- HCV RNA
- อัตราของ Hepatic cytolysis (ALT Level > 5 เท่าของค่าปกติ)
- การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ตับ (ALT)
- Fibrosis score
- ผล U/s upper abdomen : normal/fatty liver/cirrhosis/hepatoma
- การเจ็บป่วยหรือตายจากโรคตับหรือโรคเอดส์
- การตอบสนองต่อการรักษาทางด้านเอชไอวี โดยดูจาก HIV RNA, CD4 เทียบกับผู้ป่วยเอชไอวีที่ไม่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี

4.10 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วยทั้งหมดได้แก่ อายุ, เพศ, การทำงานของตับ ยาต้านไวรัสเอดส์ที่ผู้ป่วยได้ ระยะเวลาของการกินยาต้าน การกินเหล้า แจกแจงค่าเฉลี่ย ค่า median และทำการแบ่งกลุ่มผู้ป่วยตามชนิด genotype 1/4 และ 2/3 และทำการวิเคราะห์ค่า HCV RNA, fibrosis score, cirrhosis แจกแจงตามกลุ่มผู้ป่วยที่มีตามชนิด genotype แตกต่างกัน และวิเคราะห์หาปัจจัยที่อาจเกี่ยวข้องอื่นๆ ซึ่งอาจมีผลต่อค่า fibrosis score

การรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลทางด้าน L28B

ทำการหาลำดับเบสบนตำแหน่งของ SNP แต่ละจุดโดยการวิเคราะห์ sequence histogram หากตัวอย่างใดๆ เมื่อวิเคราะห์ rs8099917 และ rs12979860 แสดงผลเพียงนิวคลีโอไทด์ T หรือ G และ C หรือ T ตามลำดับ ตัวอย่างนั้นให้สรุปเป็น major homozygous type หากแสดงผลนิวคลีโอไทด์ T/T บน rs8099917 และ C/C บน rs12979860 ถ้ามี G บน rs8099917 หรือ T บน rs12979860 ให้ตัวอย่างนั้นเป็น heterozygous type

ตารางที่ 1. แสดงนิวคลีโอไทด์ของ single nucleotide polymorphism ของยีน IL28B

	rs8099917	rs12979860
Major homozygous	T	C
Minor homozygous	G	T

เมื่อทราบจีโนไทป์ของ SNPs ทั้งสองตำแหน่งแล้วจะนำมาเปรียบเทียบว่าสอดคล้องกันหรือไม่ หากได้ผลมาสอดคล้องกัน จะทำการตรวจสอบเพื่อวิเคราะห์หาข้อมูลที่ต้องต่อไป

4.11 สถานที่ที่จะทำการวิจัย ทดลอง หรือเก็บข้อมูล

สถานที่ตรวจ ซักประวัติ รวบรวมข้อมูล เก็บตัวอย่างเลือดคนไข้

1. ดิเกอปร ชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
2. ศูนย์วิจัยโรคเอดส์ สภากาชาดไทย

สถานที่ตรวจ HCV RNA/HCV genotype

ห้องปฏิบัติการ ดิเกอปร ชั้น 7 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

สถานที่ตรวจ Fibroscan

โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

สถานที่ตรวจการทำงานของตับรวมถึงการตรวจ ultrasound abdomen

1. ห้องปฏิบัติการ ตีกอปร ชั้น 7 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
2. ห้องตรวจอัลตราซาวด์ ตีกอปร ชั้น 4 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

สถานที่ตรวจ IL 28B gene

ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านไวรัสวิทยาคลินิก ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.12 อุปกรณ์การวิจัย

เข็มเจาะเลือด หลอดฉีดยา เครื่อง real time PCR, reagent, fibroscan

4.13 สถานที่วิเคราะห์ข้อมูล

ศูนย์วิจัยโรคเอดส์ สภากาชาดไทย

4.14 ปัญหาทางจริยธรรม

ผู้วิจัยจะปฏิบัติตามหลักจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์โดยยึดหลักการดังนี้

1. หลักความเคารพในบุคคลโดยเท่าเทียมกัน โดยให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องเพียงพอ ไม่บิดเบือนข้อมูลเกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นในระหว่างการวิจัยและรักษาความลับของผู้เข้าร่วมวิจัย
2. หลักการให้คุณประโยชน์ โดยได้ระบุความเสี่ยงและประโยชน์ที่ได้รับในการเข้าร่วมในงานวิจัย
3. หลักความยุติธรรม

การศึกษานี้เป็น observational cohort ไม่มีการใช้ยาใดๆนอกเหนือจากที่ผู้ป่วยได้รับอยู่เดิม

การศึกษานี้ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยเมื่อ 8 มิถุนายน 2553 และผ่านมติที่ประชุมของคณะกรรมการที่ปรึกษาชุมชน community advisory board (CAB) ของศูนย์วิจัยโรคเอดส์ สภากาชาดไทย จึงเริ่มโครงการได้และผู้วิจัยได้เตรียมเอกสารขอความยินยอมจากคนไข้ก่อนที่จะร่วมโครงการ

4.15 การเก็บตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วย

ผู้ป่วยมีโอกาสที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ข้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือดหรือหน้ามืดและโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดแต่พบได้น้อยมาก

- การป้องกัน
1. ให้คำแนะนำผู้ป่วยให้ทราบถึงผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นและป้องกันการรักษา
 2. ติดตามอาการผู้ป่วยอย่างใกล้ชิดหลังการเจาะเลือด

4.16 ความเสี่ยง

ผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการวิจัยในการตรวจ fibroscan และ ultrasound upper abdomen ซึ่งทั้งสองวิธีไม่มีการใช้สารรังสี

4.17 ข้อมูลต่างๆของผู้ป่วย

ผู้ป่วยแต่ละคนจะถูกเก็บเป็นความลับจะเปิดเผยในรายงานการวิจัยเฉพาะในภาพรวมซึ่งไม่สามารถระบุตัวผู้ป่วยได้เท่านั้น ซึ่งทางผู้วิจัยจะเก็บรักษาข้อมูลของผู้ป่วยที่อยู่ในรูปแบบเอกสารไว้ในตู้เก็บเอกสารในห้องที่สามารถล็อกได้ โดยมีเพียงหัวหน้าโครงการและคณะผู้วิจัยซึ่งได้รับมอบหมายจากหัวหน้าโครงการวิจัยเท่านั้นที่สามารถเข้าถึงข้อมูลดังกล่าว ส่วนข้อมูลในรูปแบบอิเล็กทรอนิกส์นั้นจะเก็บไว้ในคอมพิวเตอร์ของศูนย์วิจัยโรคเอดส์ สภากาชาดไทย ซึ่งมีการป้องกันการใช้โดยรหัสผ่านและโปรแกรมป้องกันไวรัสคอมพิวเตอร์

4.18 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทำโดยใช้ Stata version 12.1 (Stata Corp., College Station, Texas) สำหรับข้อมูลเชิงพรรณนาจะรายงานเป็น เปอร์เซ็นต์ และมีการรายงานความถี่ เช่น การกระจายตัวของ HCV genotype, IL-28B เป็นต้น ค่ามัธยฐาน และ พิสัยควอไทล์ (IQR) ใช้ตัวแปรแบบต่อเนื่อง และ ดูความสัมพันธ์ของการเกิดพังผืดในตับ นอกจากนั้นมีการใช้โอกาสของการเกิดเหตุการณ์ (OR) ค่าระดับความเชื่อมั่นที่ 95%, (95% CI), การหาความสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson's chi test) หรือ การทดสอบตัวอย่างของฟิชเชอร์ (Fisher's exact test) (สำหรับตัวแปรที่เป็นหมวดหมู่) ส่วนตัวแปรต่อเนื่องใช้การแจกแจงค่าความแปรปรวน (Student's t test) มีการใช้การวัดความสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson correlation coefficient) ในการหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับวิตามินดี และการเป็นโรคตับแข็ง (advanced liver fibrosis)

สำหรับการวิเคราะห์ multivariate analysis ใช้ multiple logistic regression analysis ตัวแปรที่มี $p < 0.1$ จาก univariate analysis จะถูกเลือกเข้ามาใน final model

5. ผลการวิจัย

ณ วันที่ 31 ตุลาคม 2555 มีผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีที่ติดตามการรักษาที่ HIV-NAT ศูนย์วิจัยโรคเอดส์ตั้งแต่ปี 1996 เป็นจำนวน 1,680 คน และผู้ป่วยเหล่านี้ได้รับการตรวจ anti HCV ab เป็นจำนวน 92% ในกลุ่มนี้ตรวจพบ anti HCV เป็นบวกจำนวนทั้งสิ้น 131 คน ทั้ง 131 คนนี้ได้มีการตรวจ anti HCV ซ้ำ พบว่ามี 21 คน (16%) เป็น false positive โดยการตรวจ anti HCV เป็นลบใน 2 ครั้งและ HCV RNA < 12 copies/ml และนอกจากนี้พบว่าผู้ป่วยเสียชีวิต 9 คน โดยเสียชีวิตจากมะเร็งตับ 4 คน ตับวาย 2 คน อุบัติเหตุ 1 คน และโรคติดเชื้อฉวยโอกาส 2 คน โดยสรุปมีผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีร่วมกับเอชไอวีอยู่ใน HIV-NAT 006 ทั้งหมด 110 คน และเมื่อรวมกับผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีจาก โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และ โรงพยาบาลตากสิน จำนวน 54 คน รวมเป็นทั้งสิ้น 164 คน แต่มีผู้ป่วยที่ยินยอมเข้าร่วมโครงการนี้ทั้งหมด 130 คน

ข้อมูลพื้นฐาน

ข้อมูลทางด้าน demographic data เปรียบเทียบผู้ป่วยระหว่างผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีร่วมกับเอชไอวี (HIV/HCV) ทั้งหมด 130 คน และผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีโดยไม่มีเอชไอวี (HCV mono) ทั้งหมด 331 คน ได้แสดงในตารางที่ 1 ซึ่งพบว่ากลุ่ม HIV/HCV มีจำนวนผู้ป่วยชายมากกว่าหญิง ผู้ป่วยหญิงจำนวน 19 คนไม่มีประวัติใช้ยาเสพติดแบบฉีดเข้าเส้น แต่มีคู่นอนที่มีประวัติใช้ยาเสพติด และ ผู้ป่วยชาย 17 คน มีพฤติกรรมแบบชายรักร่วมเพศ และไม่มีประวัติใช้ยาเสพติดแบบเข้าเส้น ในกลุ่ม HCV mono มีผู้ป่วยที่ไม่มีความเสี่ยงที่จะติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีสูงถึง 31.1%

ตารางที่ 1 ข้อมูลทางประชากรศาสตร์ และข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่เป็น HIV/HCV co-infection เปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่เป็น HCV mono-infection (Demographic and baseline characteristic of subjects with HIV/HCV co-infection, versus those with HCV mono-infection)

Characteristic	Total N=461	HIV/HCV co-infection N=130	HCV mono N=331	p-value
Gender, N(%)				<0.001
Male	323 (70)	111 (85)	212 (64)	
Female	138 (30)	19 (15)	119 (36)	
Age, year	43 (36-52)	42 (37-48)	44 (36-53)	0.36
Age>50 years, N (%)	136 (30)	24 (18)	112 (34)	0.001
Median (IQR) BMI, kg/m ²	23.2	21.6(19.4-23.8)	23.9	<0.001
BMI>25 kg/m ² , N(%)	(20.8-25.6) 116 (29.3)	19 (15.8)	(21.5-26.0) 97 (35.1)	<0.001
Estimated duration of HCV exposure, year	17 (10-24)	15 (10-21)	17.5 (10-25)	0.042

ตารางที่ 1 ข้อมูลทางประชากรศาสตร์ และข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่เป็น HIV/HCV co-infection เปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่เป็น HCV mono-infection (ต่อ)

Characteristic	Total N=461	HIV/HCV co-infection N=130	HCV mono N=331	p-value
Risk factor, N(%)				<0.001
Heterosexual	30 (7)	25 (19)	5 (1.6)	
Men having sex with men	17 (4)	17 (13)	0	
IDUs	154 (35)	81 (62)	73 (24)	
Blood transfusion/surgery	91 (21)	4 (3)	87 (28)	
Tattoo, acupuncture, Needle stick injury	64 (15)	1 (0.8)	63 (21)	
Unknown	105 (23)	2 (1.5)	103 (31.1)	
Current CD4 cells count, cells/mm ³		504 (344-595)		
Proportion of current HIV RNA < 50 copies/ml, N (%)		91 (84)		
Current antiretroviral therapy				
None		18 (14)		
2NRTI and NNRTI		70 (54)		
2NRTI and boosted PI		42 (32)		

NRTIs: Nucleoside reverse transcriptase inhibitor; NNRTI: Non Nucleoside reverse transcriptase inhibitor, PI: Protease inhibitor; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase

ผลของ HCV genotype, IL-28B, fibroscan ได้แสดงในตารางที่ 2 และภาพที่ 1

ตารางที่ 2 ข้อมูลเกี่ยวกับ HCV genotype, IL-28b and จำนวนเชื้อไวรัสตับอักเสบซีในเลือด ของผู้ที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี (HIV/HCV) และ ผู้ที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเพียงอย่างเดียว (HCV mono)

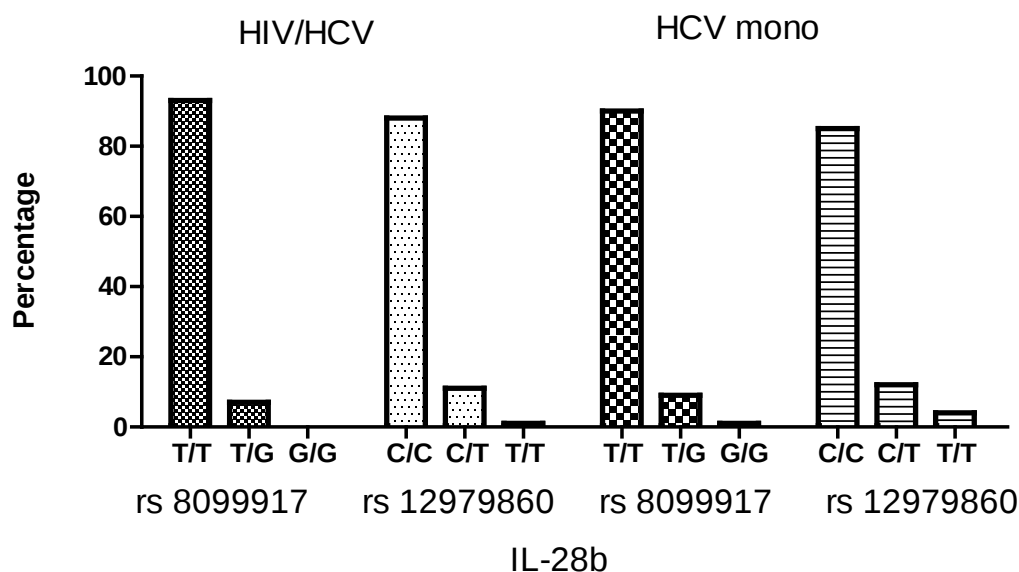
HCV genotype and subtypes, N (%)	Total N=376	HIV/HCV N=101	HCV mono N=275	<i>p-values</i>
Genotype 1	128 (34)	32 (31.7)	96 (34.9)	0.030*
1a	62 (16.5)	23 (22.9)	39 (14.2)	
1b	24 (6.4)	5 (4.9)	19 (6.9)	
Unknown	42 (11.2)	4 (3.9)	38 (13.8)	
Genotype 2 (2a)	2 (0.5)	0	2 (0.7)	
Genotype 3	176 (46.8)	50 (49.5)	126 (45.8)	
3a	106 (28.2)	33 (32.6)	73 (26.5)	
3b	18 (4.8)	9 (8.9)	9 (3.3)	
Unknown	52 (13.8)	8 (7.9)	44 (16)	
Genotype 5	1 (0.3)	0	1 (0.4)	
Genotype 6	68 (18.1)	13 (12.9)	50 (18.2)	
6a	2 (0.5)	0	2 (0.7)	
6f	16 (4.3)	3 (2.9)	13 (4.7)	
6i	5 (1.3)	0	5 (1.8)	
6j	2 (0.5)	0	2 (0.7)	
6n	21 (5.6)	10 (9.9)	11 (4)	
6v	1 (0.3)	0	1 (0.3)	
Unknown	16 (4.3)	0	16 (5.8)	
Genotype 1+3	5 (1.3)	5 (4.9)	0	
Genotype 1+2	1 (0.3)	1 (0.9)	0	
IL-28b (rs8099917), N (%)	N=204	N=68	N=136	0.496
T/T	185 (90.7)	63 (92.7)	122 (89.7)	
T/G	17 (8.3)	5 (7.4)	12 (8.8)	
G/G	2 (0.98)	0	2(1.5)	

ตารางที่ 2 ข้อมูลเกี่ยวกับ HCV genotype, IL-28b and จำนวนเชื้อไวรัสตับอักเสบซีในเลือด ของผู้ที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี (HIV/HCV) และ ผู้ที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเพียงอย่างเดียว (HCV mono) (ต่อ)

HCV genotype and subtypes, N (%)	Total N=376	HIV/HCV N=101	HCV mono N=275	<i>p-values</i>
IL-28b (rs12979860), N (%)	N=179	N=94	N=85	0.514
C/C	155 (86.6)	83 (88.3)	72 (84.7)	
C/T	20 (11.2)	10 (10.6)	10(11.8)	
T/T	4 (2.2)	1 (1.1)	3(3.5)	
Sequence error		10		
log HCV RNA, copies/ml	N=240	N=129	N=111	
Median (IQR)	5.9 (5.4-6.6)	6.0 (4.9-6.6)	5.8 (5.6,- 6.5)	0.829
HCV RNA >100,000 copies/ml, N (%)	191 (79.6)	96 (74.4)	95 (85.6)	0.032
HCV RNA > 800,000 copies/ml, N (%)	118 (49.2)	70 (54.3)	48 (43.2)	0.089
HCV RNA < 12 copies/mL, N(%)	23 (9.6)	21 (16.3)	2 (1.8)	<0.001

*P-value was compare proportion of genotype 1,3 6 and other between HIV/HCV and HCV mono

ภาพที่ 1 ข้อมูลเกี่ยวกับ IL-28B polymorphism ผู้ที่ติดเชื้อเอชไอวีรวมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี (HIV/HCV) และ ผู้ที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเพียงอย่างเดียว (HCV mono)



จากตารางที่ 2

ผู้ป่วย HIV/HCV 130 คนได้มีการตรวจ HIV RNA ซึ่งได้ค่า median (Interquartile range) 6.7 (5.6-7.3) $\log_{10}$ copies/ml มีผู้ป่วยจำนวน 21 คนมี anti HCV RNA < 12 copies/mL ซึ่ง 3 คนเคยได้รับการรักษาด้วย Pegylated IFN+Ribavirin และที่เหลือผู้ป่วยน่าจะเป็น acute hepatitis C และมี spontaneous clearance ของ hepatitis C ซึ่งจากผลเปรียบเทียบปริมาณไวรัสตับอักเสบซีในเลือดระหว่างผู้ป่วย HIV/HCV และ HCV ที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวีพบว่า ปริมาณไวรัสตับอักเสบซีในเลือดในผู้ป่วย HIV/HCV มีระดับไม่ต่างจากในผู้ป่วย HCV ที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวี [6.0 (4.9-6.6) $\log_{10}$ copies/ml และ 5.8 (5.6-6.5) $\log_{10}$ copies/ml, $p < 0.829$] แต่มีแนวโน้มจำนวนผู้ป่วยที่มี HCV RNA > 800,000 copies/ml มากกว่า (54.3% versus 43.2%, $p = 0.089$) ผู้ป่วย HIV/HCV

ได้มีการตรวจ HCV genotype (GT) ในผู้ป่วยเอชไอวีทั้งหมด 130 คน แต่สามารถตรวจได้ (amplified) เป็นจำนวน 101 คน โดย 31.7% เป็น GT1 (1a=22.9%, 1b=4.9%), 49.5% เป็น GT3 (3a=32.6%, 3b=8.9%), และ 12.9% เป็น GT6 (6n=9.9%, 6f=2.9%) ส่วนในผู้ป่วย HCV ที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวี ได้มีการตรวจ HCV genotype (GT) เป็นจำนวน 275 คน โดย 34.9% เป็น GT1 (1a=14.2%, 1b=6.9%) 45.8% เป็น GT3 (3a=26.5%, 3b=3.3%), และ 18.2% เป็น GT6 (6n=4.0%, 6f=4.7%) และพบว่าการติดเชื้อร่วมสองสายพันธุ์ เฉพาะใน HIV/HCV (5%)

รูปภาพที่ 1 แสดงถึงเปอร์เซ็นต์ของ IL28B ที่ตำแหน่ง rs8099917, rs12979860 ซึ่งพบว่ามี major allele ของ rs8099917 (T/T) และ rs12979860 (C/C) สูงถึง 90.7% และ 86.6% ตามลำดับ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาไวรัสตับอักเสบซีด้วย Pegylated interferon/ribavirin

ผลการรักษาด้านเอชไอวี

สำหรับ HIV parameters นั้นพบว่า ในผู้ป่วย HIV/HCV พบค่า median CD4 cell count ในช่วงเวลาที่มีการเข้าร่วมโครงการ 494 cells/mm³ (IQR 310-625 cells/mm³) และมีเพียง 16 คน (12.5%) ที่มี CD4 cell count <200 cells/mm³ จากจำนวน 130 คนมี 87% ที่ยังได้รับยาต้านไวรัสเอชไอวี ซึ่งมี Median duration of cART เป็น 7 (IQR5-1) ปี โดยได้รับยาต้านไวรัสเอชไอวีกลุ่ม Protease inhibitors (PIs), และ non nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) เป็นจำนวน 32.3% และ 55.6%, ตามลำดับและ 78% ของคนไข้ที่กินยาด้านมี HIV-RNA < 50 copies/ml นอกจากนั้นพบคนที่ใช้หรือเคยใช้ Stavudine (d4T) สูงถึง 77 คน (59.2 %) และระยะเวลาเฉลี่ย 33 เดือน (IQR 15 - 56 เดือน) ภาวะไขมันย่ำยที่(Lipodystrophy) พบใน 28 คน (21.5%)

ผลทางด้านการเกิดเยื่อพังผืดที่ตับ (liver fibrosis) และการตรวจวิตามินดี

ในส่วนของ Liver fibrosis ได้มีการตรวจ Fibroscan แล้วเสร็จเป็นจำนวน 108 คนในผู้ป่วย HIV/HCV และ 296 คนในผู้ป่วย HCV โดยได้มีการตรวจ Fib-4, APRI และแบ่ง fibrosis โดย transient elastometry (Fibroscan) ดังนี้

APRI (AST/platelet ratio index) score คำนวณโดยใช้สูตร $\text{AST/upper limit of normal} = 40 \text{ IU/L} / \text{platelet count} \times 10^9 / \text{L}$

Fibrosis 4 Score (Fib-4) คำนวณโดยใช้สูตร $(\text{age} \times \text{AST}) / (\text{platelet count} \times (\text{ALT})^{1/2})$

Fibrosis stage ได้แบ่งตาม fibrosis score ซึ่งวัดโดย Fibroscan ดังนี้

1. Mild (Metavir F0-F1) : Fibrosis score <7.1 kPa
2. Moderate (F2) : fibrosis score 7.2 - 9.4 kPa
3. Severe (F3): Fibrosis score 9.5 – 14 kPa
4. Cirrhosis (F4): Fibrosis score > 14kPa.

ซึ่งถ้ามี Fibrosis score >7.2 kPa จะถือว่ามีความ significant liver fibrosis และถ้า Fibrosis score >9.5 kPa จะถือว่ามีความ advanced liver fibrosis

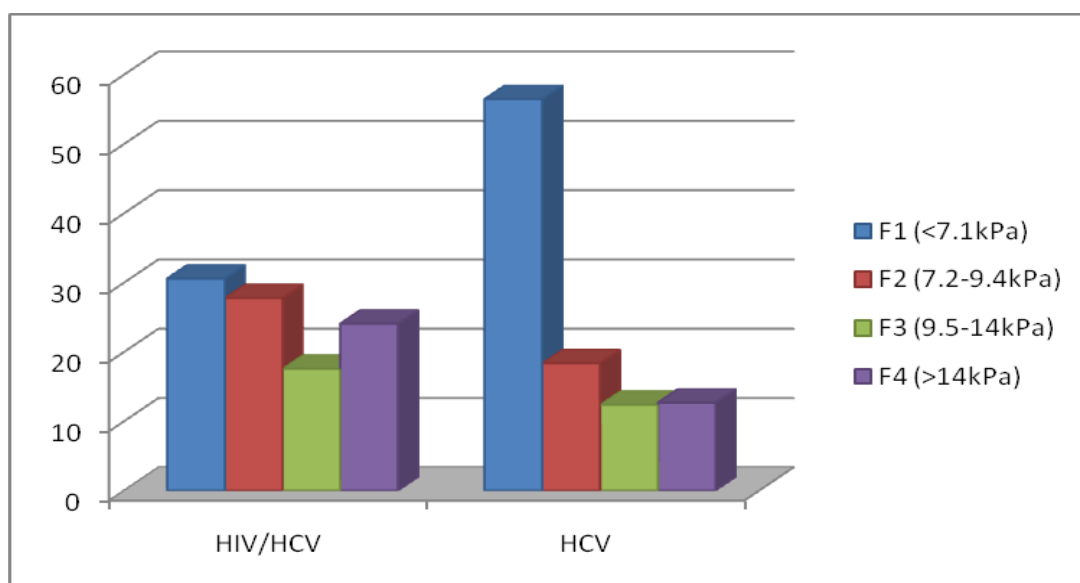
ในคนที่เป็ระดับแข็งจะมีการใช้ Fibrosis score > 14kPaและ/หรือ มี ผลการตรวจอัลตราซาวด์พบว่าเป็นระดับแข็ง ส่วนระดับ vitamin D levels มีค่านิยามดังนี้

1. Normal vitamin D : 25 hydroxy vitamin D [25(OH)D] >30 ng/ml
 2. Vitamin D insufficiency: 25(OH)D > 20-30 ng/ml
 3. Vitamin D deficiency 25(OH)D < 20 ng/ml
- ซึ่งผลการตรวจได้รายงานในตารางที่ 3 และภาพที่ 2

ตารางที่ 3 ระดับวิตามินดี และ Liver fibrosis marker ระหว่าง ผู้ที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (HIV/HCV) และ ผู้ที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเพียงอย่างเดียว

Characteristics	Total N=461	HIV/HCV (n=130)	HCV mono (n=331)	p- value
FibroScan, kPa	7.1 (5.2-10.5)	8.5 (6.4-13.85)	6.6 (4.9-9.5)	<0.001
<7.1kPa, N(%)	220 (50.1)	33 (30.6)	187 (56.5)	<0.001
7.2-9.4 kPa , N (%)	91 (20.7)	30 (27.8)	61 (18.4)	
9.5- 14 kPa, N (%)	60 (13.7)	19 (17.6)	41 (12.4)	
>14 kPa, N(%)	68 (15.5)	26 (24.1)	42 (12.7)	
Fib-4 score, median (IQR)	1.3 (0.8-2.1)	1.7 (1.0-3.1)	1.1 (0.8-1.9)	0.001
<1.45, N (%)	241 (57.2) 126 (29.9) 54 (12.8)	54 (43.2) 44 (35.2) 27 (21.6)	187 (63.2) 82 (27.7) 27 (9.1)	<0.001
1.45-3.25, N (%)				
>3.25, N(%)				
APRI score, median (IQR)	0.6 (0.3-1.1)	0.8 (0.4-1.6)	0.5 (0.3-1.0)	<0.001
<0.5, N (%)	188 (44.7)	38 (30.4)	150 (50.7)	<0.001
0.5-1.5, N (%)	167 (39.7)	53 (42.4)	114 (38.5)	
>1.5, N (%)	66 (15.7)	34 (27.2)	32 (10.8)	
25 (OH) D levels , ng/ml, median (IQR)	27.4 (22.9-33.6)	27 (22.4-34.3)	27.5 (23.2-33.4)	0.961
>30 ng/ml, N (%)	112 (37.7)	45 (38.5)	67 (37.2)	
20-30 ng/ml, N (%)	153 (51.5)	56 (47.9)	97 (53.9)	
<20 ng/ml	32 (10.8)	16 (13.7)	16 (8.9)	

ภาพที่ 2 ข้อมูลของ liver fibrosis staging ในผู้ที่ติดเชื้อเอชไอวีรวมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี (HIV/HCV) และ ผู้ที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเพียงอย่างเดียว (Distribution of liver fibrosis staging among HIV/HCV and HCV mono-infected patients)



จากตารางที่ 3 พบว่า ผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับไวรัสตับอักเสบซี มี median (IQR) fibrosis สูงกว่าผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [8.5 (6.4-13.85) กับ 6.6 (4.9-9.5), $p < 0.001$] และจำนวนผู้ป่วยที่มี significant liver fibrosis, advanced liver fibrosis, cirrhosis พบจำนวนที่สูงกว่าในผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับไวรัสตับอักเสบซี ซึ่งแสดงว่าผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีที่มีเชื้อเอชไอวีด้วยมีการดำเนินโรคเร็วกว่าผู้ไม่ติดเชื้อเอชไอวีอย่างชัดเจน นอกจากนี้ได้มีการเปรียบเทียบการเกิด liver fibrosis ระหว่าง HCV genotype 1, 3, 6 ได้แสดงในตารางที่ 4 พบว่าทั้ง 3 genotype ไม่มีความแตกต่างกันทางด้านอายุ เพศ ระยะเวลาที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี การติดเชื้อเอชไอวี จำนวนคนที่ใช้ยาเสพติด คนที่มีความสัมพันธ์แบบชายกับชาย แต่ HCV genotype 6 มี HCV RNA สูงกว่า HCV genotype 3 และ 1 [(6.6 $\log_{10}$ copies/ml) กับ 3 (5.9 $\log_{10}$ copies/ml), $p = 0.01$] และ HCV genotype 3 มีค่า ALT สูงกว่า HCV genotype 1 และ 6 [77 U/L, (IQR 53 – 114) เทียบกับ genotypes 1 (61 IU/L, IQR 37 – 100) และ genotype 6 (51 U/L, IQR 32 – 83), $p < 0.001$] มีเพียง 22.84% ของ HCV genotype 3 ที่มีค่า ALT ปกตินอกจากนั้น HCV genotype 3 มี liver fibrosis score มากกว่า HCV genotype 6 และ 1 โดย ค่า fibrosis score > 7.5 kPa พบ 39.7%. ใน HCV genotype 6, 57.9% ใน HCV genotype 3 และ 47.5% ใน HCV genotype 1

ตารางที่ 4 Hepatitis C (HCV) genotypes 1, 3 and 6 are compared to each other as well as to the study participants' characteristics

Characteristics	Total (n=367)	HCV genotypes, N (%)			P-value
		Genotype 1 (n=128)	Genotype 3 (n=176)	Genotype 6 (n=63)	
Median (IQR)Age, years	44 (37-52)	44 (37-52)	44(37-52)	46(36-53)	0.987
Male	261(71.12)	87(67.97)	130(73.86)	44(69.84)	0.518
Men having sex with men	14(4.08)	6(4.96)	7(4.19)	1(1.82)	0.618
History of intravenous drug use	120(34.99)	36(29.75)	66(39.52)	18(32.73)	0.213
Duration of HCV infection, years	18(12-25)	16(10-24)	19(13-25)	20(10-25)	0.262
HIV co- infection	95(25.89)	32(25.00)	50(28.41)	13(20.63)	0.463
HCV RNA, log ₁₀ copies/mL Median (IQR)	6.0(5.7-6.6)	5.9(5.7-6.4)	5.9(5.5-6.6)	6.6(5.9-6.8)	0.010
ALT, U/L Median (IQR)	66(42- 108)	61(37- 100)	77(53- 114)	51(32-83)	<0.001
Normal ¹	109(32.15)	43(36.13)	37(22.84)	29(50.00)	<0.001
Abnormal	230(67.85)	76(63.87)	125(77.16)	29(50.00)	
Platelet count < 100,000 /mm ³	22(6.57)	6(5.13)	14(8.75)	2(3.45)	0.278
Fib-4 score Median (IQR)	1.36(0.88-2.24)	1.35(0.8-2.16)	1.49(0.97-2.49)	1.11(0.86-1.68)	0.034
<1.45	179(54.08)	64(55.17)	77(48.73)	38(66.67)	0.064
>1.45	152(45.92)	52(44.83)	81(51.27)	19(33.33)	

ตารางที่ 4 Hepatitis C (HCV) genotypes 1, 3 and 6 are compared to each other as well as to the study participants' characteristics (ต่อ)

Characteristics	Total (n=367)	HCV genotypes, N (%)			P-value
		Genotype 1 (n=128)	Genotype 3 (n=176)	Genotype 6 (n=63)	
APRI score					<0.001
Median					
(IQR)	0.63(0.38-1.18)	0.59(0.31-1.12)	0.75(0.5-1.4)	0.42(0.33-0.85)	
<0.5	128(38.67)	52(44.83)	44(27.85)	32(56.14)	<0.001
>0.5	203(61.33)	64(55.17)	114(72.15)	25(43.86)	
Fibroscan, kPa					
Median					
(IQR)	7.6(5.4-10.95)	7.2(5.4-11.4)	8.1(5.6-11.6)	6.5(5.2-8.4)	0.0080
<7.1	174(48.88)	64(52.46)	72(42.11)	38(60.32)	0.029
>7.1	182(51.12)	58(47.54)	99(57.89)	25(39.68)	

ตัวแปรที่มีผลต่อการเกิดพังผืดในตับ

การวิเคราะห์ว่าตัวแปรใดมีผลต่อการเกิด liver fibrosis สูง (fibrosis score > 9.5 KPa) ด้วยวิธี Univariate and multivariate analysis ได้แสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 Univariate and multivariate logistic regression analysis of the factors associated with advanced liver fibrosis (TE >9.5 KPa)

Variable	Univariate			multivariate		
	OR	95%CI	P-value	aOR	95%CI	P-value
Male gender	1.69	(1.05,2.72)	0.032	1.01	(0.40-2.52)	0.988
Current age of ≥50 years	2.96	(1.91,4.6)	<0.001			
Age by 10 years	1.83	(1.46- 2.29)	<0.001	1.51	(0.88-2.58)	0.133
BMI>25kg/m ²	1.75	(1.09-2.80)	0.020	2.25	(0.89-5.72)	0.087
HCV RNA of >100,000 copies/ml	2.03	(0.94,4.38)	0.072			
HCV RNA of >800,000 copies/ml	1.12	(0.64-1.95)	0.685			
Current abnormal ALT	4.58	(2.68- 7.80)	<0.001			
HIV co-infection	2.12	(1.34,3.36)	0.001	2.67	(1.20-5.93)	0.016
HCV genotype Genotype 3	1.32	(0.81,2.16)	<0.001	0.96	(0.44-2.10)	0.010
Genotype6	0.32	(0.14,0.74)		0.17	(0.05-0.65)	
Fib4 score of >1.45	8.51	(5.15-14.07)	<0.001	6.30	(2.70-14.74)	<0.001
APRI score of>0.5	10.31	(5.62-18.89)	<0.001			
Estimated Duration of HCV infection of>20 years	1.93	(1.21-3.07)	0.006	1.10	(0.47-2.60)	0.828
Current alcohol consumption	0.86	(0.54-1.35)	0.510			
Hypovitaminosis D [25(OH)D <30 (ng/ml)	1.78	(1.04-3.06)	0.037	2.48	(1.09-5.67)	0.031
IL-28 B rs8099917 TT allele	1.54	(0.49-4.86)	0.461			
rs12979860 CC allele	1.27	(0.47-3.42)	0.639			

(Fibroscan >9.kPa). OR: Odds ratio, aOR:adjusted odds ratio; 95% CI: 95% confidence interval; calculations for Fib-4 and APRI scores are described in the Materials and Methods section

จากตารางที่ 5 จาก univariate analysis พบว่า male sex, older age, abnormal ALT levels, HIV co-infection, Fib-4 scores of >1.45, APRI scores of >0.5, plasma 25(OH)D level of <30ng/ml, HCV genotype 3, body mass index (BMI) >25kg/m² และ duration of HCV infection of > 20 years มีความสัมพันธ์กับการเกิด advanced fibrosis (TE>9.5kPa) แต่หลังจากเอาตัวแปรเหล่านี้เข้าไปใน multivariate analysis พบว่าตัวแปรเหล่านี้มีผลต่อเกิด advanced fibrosis 1) HIV co-infection [aOR 2.67 (95% CI 1.20-5.93), p 0.016], 2.), Fib-4 score >1.45 [aOR 6.30 (95% CI 2.70-14.74), p< 0.001], และ3) plasma

25(OH)D level of <30ng/ml [aOR 2.48 (95% CI 1.09-5.67), p 0.031] สัมพันธ์กับการลดความเสี่ยงของการเกิดพังพืดที่ตับ [aOR 0.17 (95% CI 0.05-0.65), p 0.01]. HCV genotype 3 มีแนวโน้มที่จะเกี่ยวข้อง [aOR 0.96 (95% CI 0.44-2.10), p 0.01]

ในผู้ป่วย HIV/HCV พบว่า HIV-related parameters ได้แก่ CD4 cell counts, HIV RNA, cART use, และระยะเวลาของการกินยาต้านไม่มีผลต่อการเกิด advanced liver fibrosis ยกเว้นการกินยาหรือเคยได้ยา stavudine [aOR 6.24 (95%CI 1.68-23.2; p 0.006).

นอกจากนั้นทางทีมวิจัยได้ดูความสัมพันธ์ระหว่างการใช้ Fib-4 และ APRI ในการทำนาย advanced liver fibrosis โดย เปรียบเทียบกับการตรวจด้วย fibroscan ซึ่งพบว่า Fib-4 และ APRI มีความสัมพันธ์ที่ดีกับการตรวจด้วยfibroscan โดยพบค่าFib-4[Pearson correlation (r) = 0.50, p=<0.001) และ APRI (r = 0.49, p=<0.001).

และได้วิเคราะห์ย่อยเพื่อดูว่า IL-28B มีผลต่อการเกิด advanced liver fibrosis ซึ่งจากการวิเคราะห์ข้อมูลก็ไม่พบว่า IL-28B polymorphism มีผลต่อการเกิด advanced liver fibrosis [IL-28B rs 8099917 T/T: OR 1.54 (95% CI 0.49-4.86, p=0.461), rs 12979860 C/C: OR 1.27 (95% CI 0.47-3.42, p=0.639).

ไวรัสตับอักเสบบีและการเกิด hepatotoxicity หลังได้ยาต้าน

การศึกษาว่า การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีมีผลต่อการเกิดตับอักเสบล้างกินยาต้านหรือไม่ ได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลเฉพาะผู้ป่วยที่ติดตามการรักษาในโครงการ HIV-NAT 006 เพราะมีข้อมูลครบ และมีการติดตามระยะยาวอย่างเป็นระบบ ซึ่งจากตารางที่ 6 แสดง baseline characteristic เปรียบเทียบผู้ป่วย 3 กลุ่มคือกลุ่มที่ติดเชื้อเอชไอวีอย่างเดียว กลุ่มที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีพร้อมกับเอชไอวี (HIV/HBV) และกลุ่มที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีพร้อมกับเอชไอวี (HIV/HCV) ซึ่งพบว่า ทั้งสามกลุ่มมีผู้ชายมากกว่าผู้หญิง ในกลุ่มที่ติดเชื้อเอชไอวีอย่างเดียว และกลุ่มที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีพร้อมกับเอชไอวีได้รับยาต้านมายาวนานโดยเฉลี่ย 11 ปีซึ่งนานกว่ากลุ่มที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีพร้อมกับเอชไอวี (7 years) และกลุ่มที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีพร้อมกับเอชไอวี (HIV/HBV) และกลุ่มที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีพร้อมกับเอชไอวี (HIV/HCV) มี baseline ALT สูงกว่ากลุ่มที่ติดเชื้อเอชไอวีอย่างเดียว โดยสรุป ในกลุ่มที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีพร้อมกับเอชไอวี กลุ่มที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีพร้อมกับเอชไอวี และกลุ่มที่ติดเชื้อเอชไอวีอย่างเดียว พบอุบัติการณ์เกิด hepatotoxicity โดยดูจากเอนไซม์ตับผิดปกติตั้งแต่ระดับ 3 (> 5 เท่าของค่าปกติ) ได้ดังนี้ 2.3 (1.6, 3.4), 5.7 (4.8), 1.2 (1.0, 1.5) per 100 person year of follow-up ตามลำดับ และปัจจัยที่เกี่ยวข้องได้แสดงในตารางที่ 7 ซึ่งพบว่าคนที่เอนไซม์ตับผิดปกติก่อนเริ่มยาและผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี [OR 5.6 (95% CI 3.17-9.95), $p < 0.01$] มีความเสี่ยงต่อการเกิด hepatotoxicity ส่วน Kaplan-Meier curve เปรียบเทียบเวลาที่เกิด hepatotoxicity ระหว่างทั้งสามกลุ่มได้แสดงใน รูปภาพที่ 4 และระหว่างกลุ่มที่มี abnormal baseline ALT (รูปภาพที่ 5), และ detectable HCV RNA (> 600 copies/ml) และ undetectable HCV RNA (< 600 copies/ml) ใน คนที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีพร้อมกับเอชไอวี ได้แสดงในภาพที่ 6 ซึ่งพบว่าในคนที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีพร้อมกับเอชไอวีที่มีปริมาณไวรัสตับอักเสบบีในเลือดมีโอกาสเกิด hepatotoxicity สูงกว่ากลุ่มที่มีปริมาณไวรัสตับอักเสบบีในเลือดต่ำกว่า 600 copies/ml

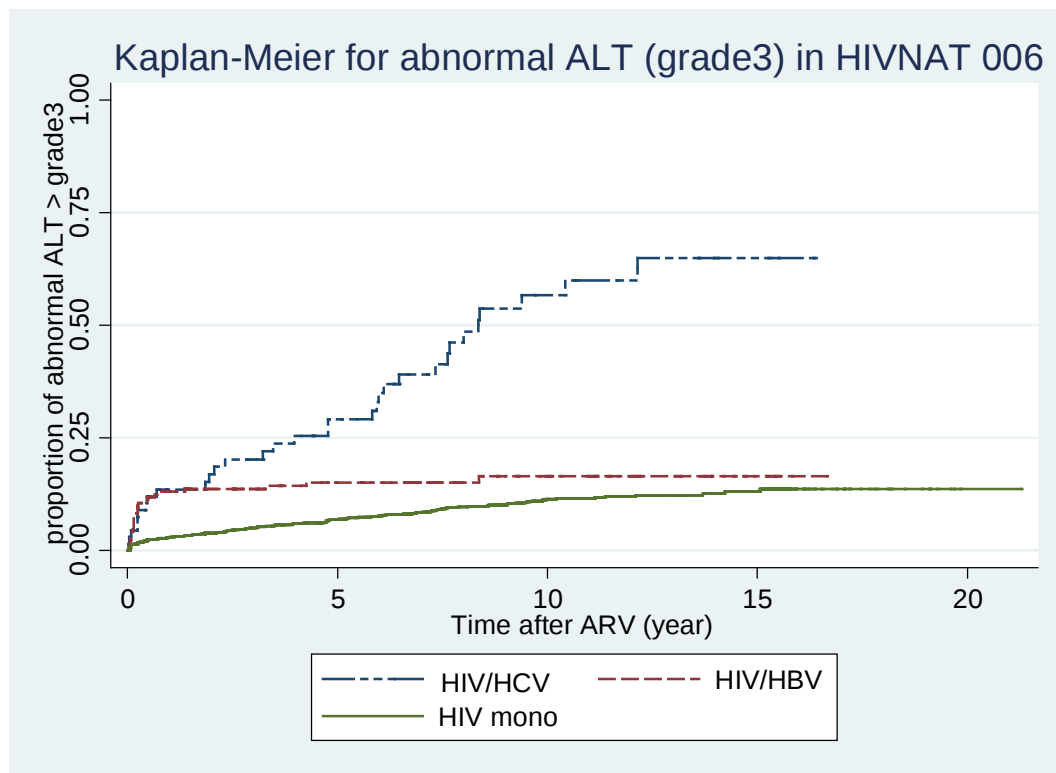
ตารางที่ 6 Baseline characteristic of HIV/HCV co-infected subjects in 006 cohort since antiretroviral drug was started

	HIV/HCV co-infection N=110	HIV/HBV co- infection (n=183)	HIV mono- infection (n=1,177)	<i>P-value</i>
Gender, N (%)				<0.001
Male	81(73.64)	117(63.93)	642(54.55)	
Female	29(26.36)	66(36.07)	535(45.45)	
Age at present time, year				0.601
Mean (SD)	43(8)	42(8)	43(8)	
Median (IQR)	43(37, 49)	42(37, 48)	43(38, 48)	
Age at ART started, year				0.051
Mean (SD)	34(7)	34(7)	33(8)	
Median (IQR)	34(29,39)	34(29,38)	32(28, 38)	
Median time on ART (year)	11(6,14)	7(6,12)	11(6,14)	<0.001
ALT (U/L) baseline , median (IQR)	38(27,66)	36(24, 61)	24(17,36)	<0.001
Normal, n (%)	62(63.27)	107(65.24)	749(86.89)	<0.001
Grade 1 (1.25- 2.5xULN)	24(24.49)	41(25.00)	97(11.25)	
Grade 2 (2.6- 5.0xULN)	10(10.20)	13(7.93)	14(1.62)	
Grade 3 (5.1- 10.0xULN)	2(2.04)	2(1.22)	1(0.12)	
Grade 4 (>10.0xULN)	0(0.0)	1(0.61)	1(0.12)	
Total	98(100.00)	164(100.00)	862(100.00)	

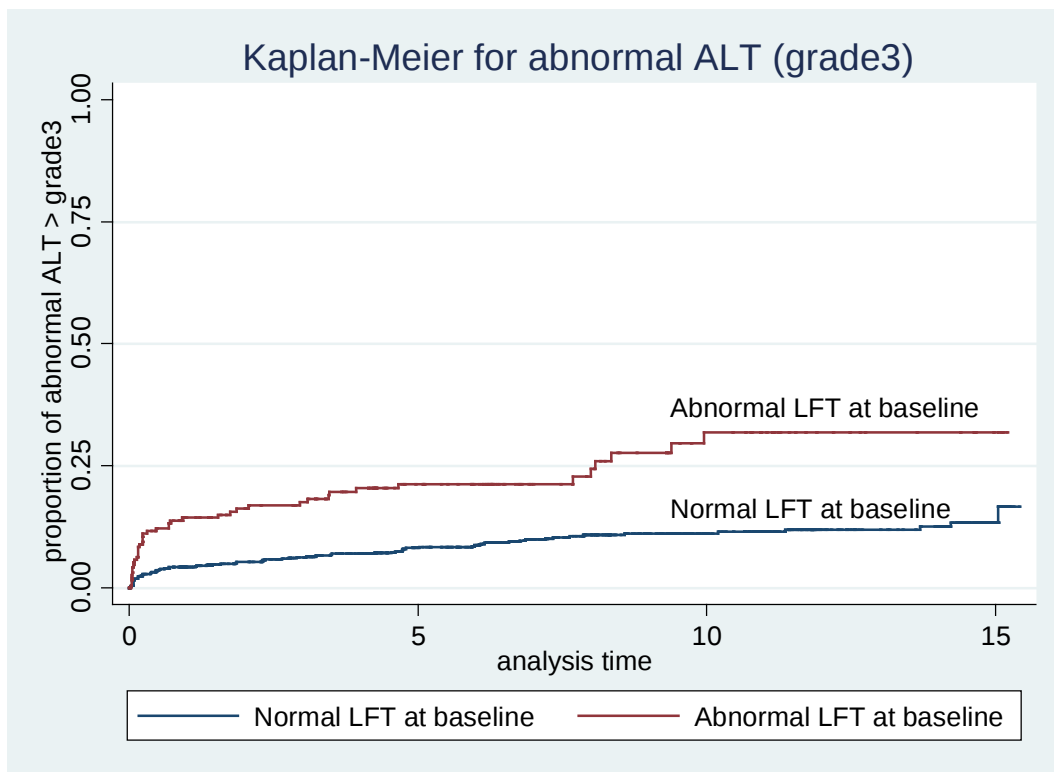
ตารางที่ 7 Univariate and multivariate analysis of predictive factors for development of grade 3 ALT (>5.1-ULN)) by study groups (HCV/HIV, HBV/HIV, and HIV mono infection).

	Univariate			multivariate		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	<i>P-value</i>
Gender:						
male	2.06	(1.48-2.86)	<0.001	1.26	(0.77-2.06)	0.357
Age at start						
ARV <30	0.85	(0.62-1.16)	0.312			
BMI >25	1.42	(1.00-2.03)	0.050	1.11	(0.70-1.78)	0.649
Baseline ALT						
Normal	Ref	1				
Abnormal	3.10	(2.15-4.46)	<0.001	1.93	(1.24-3.01)	0.004
Log HIV-RNA baseline	1.07	(0.87-1.30)	0.530			
CD4 cell count						
<200	Ref	1	0.036			
200-350	0.58	(0.33-1.01)				
>350	0.67	(0.47-0.95)				
CD4 cell count by 50 cell/ml increase	0.93	(0.88-0.99)	0.019	0.96	(0.90-1.03)	0.278
Coinfection						
HIV	Ref	1		Ref		
HIV/HBV	1.83	(1.20, 2.80)		1.93	(1.16-3.21)	
HIV/HCV	6.16	(4.16-9.12)	<0.001	5.61	(3.17-9.95)	<0.001
Alcohol	1.25	(0.90-1.74)	0.189			
Smoking	1.86	(1.33-2.59)	<0.001	1.06	(0.66-1.69)	0.815

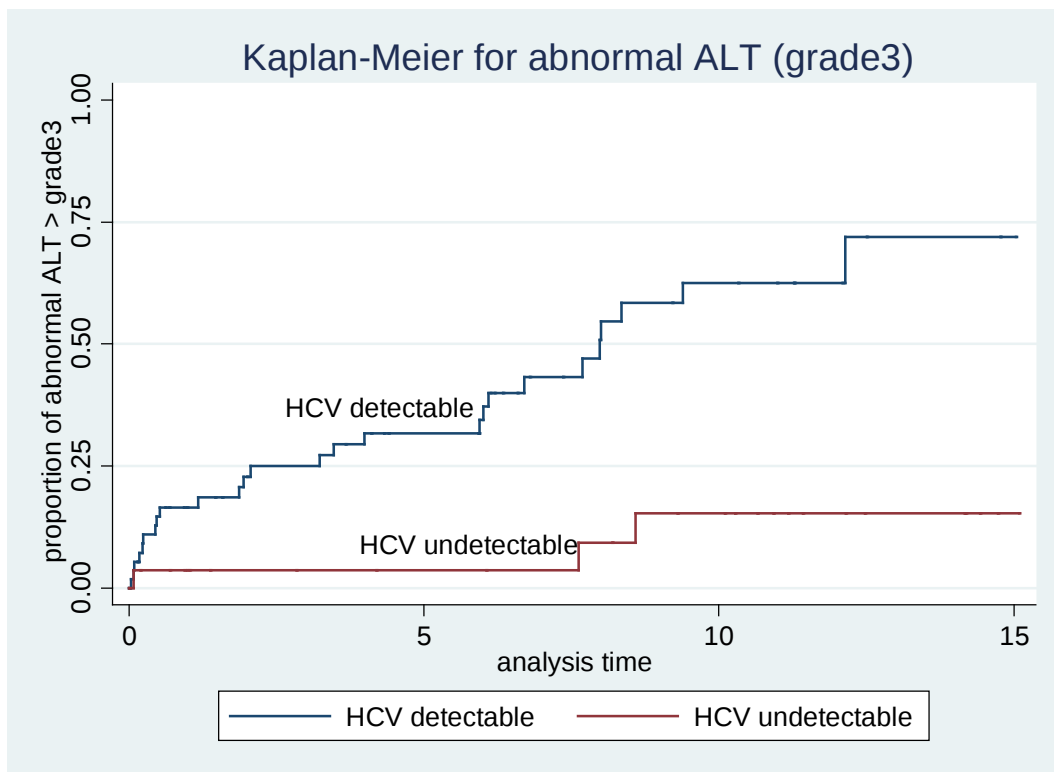
ภาพที่ 4 Kaplan-Meier curve showing time to development of grade 3 liver enzyme toxicity (>5 times the upper limit of normal) between HCV/HIV, HBV/HIV, and HIV mono-infected groups



ภาพที่ 5 Kaplan-Meier curve showing time to develop grade 3 enzyme toxicity (>5 times the upper limit of normal) by whether subjects had normal or abnormal liver enzymes prior to antiretroviral therapy



ภาพที่ 6 Curve showing time to development of grade 3 liver enzyme toxicity (>5 times the upper limit of normal) for HCV/HIV co-infected subjects, by whether patients had detectable HCV RNA (> 600 copies/ml) or undetectable HIV RNA ($\leq$ 600 copies/ml)



6. อภิปรายและวิจารณ์ผล

จากการศึกษาพบว่าการกระจายตัวของ HCV genotype ทั้งใน HIV/HCV และ HCV ไม่ต่างกัน โดย HCV genotype 3 (47%) เป็น genotype ที่พบบ่อยที่สุดใน HIV/HCV และ HCV ตามด้วย genotype 1 (34%) และ genotype 6 (18%) โดย HCV genotype 3a พบบ่อยที่สุด (28%) ซึ่งผลเรื่อง genotype ไม่ต่างจากการศึกษาอื่นในคนไทยที่พบ HCV genotype 3a (33-51%), 1b (19-30%), และ 6a (9-30%) ในกลุ่มผู้ขายเสฟติด ผู้บริจาคโลหิตและประชากรทั่วไป [43-45] ที่แตกต่างจากการศึกษาอื่นในประเทศคือ การศึกษานี้มีประชากรที่ศึกษามีทั้งกลุ่มผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีที่ติดและไม่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมด้วย และประชากรที่ศึกษามีขนาดใหญ่ รวมถึงมีข้อมูลของ HCV RNA และ IL-28B รวมถึงมีประชากรกลุ่มอื่น เช่นกลุ่มชายที่มีเพศสัมพันธ์กับชาย [men having sex with men (MSM)]

รูปแบบ ของ HCV genotype ในประเทศไทยต่างจากประเทศเพื่อนบ้าน ซึ่งพบ HCV genotype 1 มากที่สุด เช่น จีน 66.2% [46], ฮองกง 63.6%[47], และอินโดนีเซีย 63%[48] นอกจากนั้นการศึกษานี้พบ genotype 6 ถึง 13% และ 18% ใน HIV/HCV co-infected และ HCV mono-infected group ตามลำดับ HCV genotype 6 พบไม่บ่อยในต่างประเทศ ส่วนใหญ่จะพบในประเทศเวียดนาม จีน ฮองกงและประเทศไทย ซึ่งประเทศไทยคาดว่าจะได้รับ genotype 6 มาจากประเทศเวียดนาม และจีนตอนใต้

การศึกษานี้พบการติดเชื้อร่วมกันระหว่าง 2 สายพันธุ์ถึง 5% และพบเฉพาะในกลุ่มผู้ขายเสฟติดที่มีทั้ง HIV และ HCV ซึ่งคาดว่า กลุ่มผู้ขายเสฟติดดังกล่าวมี HCV RNA สูงและมีการแลกเปลี่ยนเข็มกันทำให้มีการติดเชื้อหลายสายพันธุ์ ซึ่งในการศึกษานี้พบ 54% ของกลุ่มผู้ขายเสฟติด มี HCV RNA >800,000 copies/ml เมื่อดูพฤติกรรมเสี่ยงต่อการติดเชื้อ HCV พบว่ากลุ่มผู้ขายเสฟติดมากที่สุด แต่ที่น่าสนใจคือกลุ่ม heterosexual และ MSM ซึ่งปฏิเสธการใช้ยาเสฟติด ซึ่งพบสูงขึ้นในกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีร่วมด้วย โดยเฉพาะในผู้ไม่ติดเชื้อเอชไอวีไม่มีคนใดเลยที่มีพฤติกรรม MSM ในขณะที่กลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีร่วมด้วยมีถึง 13% ที่มีพฤติกรรม MSM และ 19% ในกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีร่วมด้วย มีการติดเชื้อ HCV จากพฤติกรรมแบบ heterosexual ซึ่งในกลุ่มไม่ติดเชื้อเอชไอวีพบเพียง 1.6% ข้อมูลนี้ยืนยันว่าในกลุ่มไวรัสตับอักเสบบีที่มีการติดเชื้อเอชไอวีด้วย จะมีการกระจายเชื้อไวรัสตับอักเสบบีทางเพศสัมพันธ์ได้สูงขึ้น ซึ่งโดยความเป็นจริงในกลุ่มที่ไม่มีการติดเชื้อเอชไอวีที่มีการกระจายเชื้อไวรัสตับอักเสบบีทางเพศสัมพันธ์ได้น้อยมากๆ ในการศึกษาในอาสาสมัครที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีอย่างเดียว จำนวน 895 คนและติดตามนาน 10 ปีพบว่า มีการการกระจายเชื้อไวรัสตับอักเสบบีทางเพศสัมพันธ์ได้น้อยมากๆ [49].

มีรายงานการระบาดของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีมากขึ้นในกลุ่ม MSM จากประเทศอเมริกา [50] และยุโรป [51, 52] การที่กลุ่ม MSM ที่ติดเชื้อเอชไอวีด้วย มีโอกาสกระจายเชื้อไวรัสตับอักเสบบีทางเพศสัมพันธ์ได้มากขึ้น คงเป็นได้จากหลายสาเหตุ เช่น เชื้อเอชไอวีเพิ่มปริมาณไวรัสตับอักเสบบีในเลือดและน้ำหล่อเลี้ยงอสุจิ [53] ผู้ป่วยกลุ่มนี้อาจจะมีการใช้ยา recreational drug เพื่อเพิ่มความต้องการทางเพศ และการมีคู่นอนหลายคน ทำให้ลดการระวังหรือไม่มีการป้องกัน และการมีเพศสัมพันธ์แบบโอดโพน เป็นต้น

ปัจจุบันพฤติกรรมทางเพศแบบ MSM ในประเทศไทยเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง แต่ไม่มีข้อมูลของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในผู้ป่วยกลุ่มนี้ ซึ่งผลจากการศึกษานี้แพทย์ที่ดูแลกลุ่ม MSM โดยเฉพาะที่มีคู่นอนหลายคน ควรจะตระหนักถึงการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีด้วย [54] เพราะถ้าผู้ป่วยมีทั้ง HIV และ HCV จะทำให้โรคซับซ้อนมากขึ้น และเป็นเร็วขึ้น ดังนั้นการตรวจให้ทราบว่าติดเชื้อทั้งสองตัวเร็ว และมีการรักษาเร็ว ก็จะทำให้ลดการกระจายของทั้ง HIV และ HCV

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกในประเทศไทยที่ดู HCV RNA, IL-28B และ liver fibrosis ระหว่าง HIV/HCV และ HCV ซึ่งพบ IL-28B แบบ major allele สูงถึง 91% (rs8099917 T/T) และ 87% (rs12979860 C/C) ซึ่งผลการศึกษานี้ได้ผลเหมือนกับการศึกษาก่อนหน้านี้ว่าในคนเอเชียมี IL-28B polymorphism สูงถึง 91-98% [40] ซึ่งเป็นตัวทำนายการตอบสนองต่อการรักษาด้วย pegylated interferon/ribavirin [55-61] ซึ่งถ้าเป็น rs8099917 G allele จะทำให้การตอบสนองต่อยาลดลง [62]

ส่วนในด้าน liver fibrosis โดยการตรวจด้วยเครื่อง transient elastography พบว่า ในกลุ่ม HIV/HCV มี liver fibrosis มากกว่ากลุ่ม HCV mono และการติดเชื้อเอชไอวีร่วมด้วยเสี่ยงต่อการเกิด advanced liver fibrosis (fibrosis score >9.5 kPa) 2.67 เท่า และประมาณ 70% ของกลุ่ม HIV/HCV มี significant liver fibrosis (fibrosis score >7.1 kPa) และ 41.6% มี advanced liver fibrosis (fibrosis score >9.5 kPa) ซึ่งผู้ป่วยสมควรได้รับการรักษาเพื่อป้องกันการเกิดตับแข็ง ตับวาย และมะเร็งตับ ซึ่งผลการศึกษานี้จะเหมือนกับการศึกษาที่ผ่านมาในชาวตะวันตกที่พบว่า ในกลุ่ม HIV/HCV มี liver fibrosis มากกว่ากลุ่ม HCV mono โดยประมาณ 1.4 เท่า [17, 18, 63] ถึงแม้มีรายงานว่า อายุมีผลต่อ liver fibrosis [18, 63, 64] แต่การศึกษานี้ไม่พบความสัมพันธ์นั้น

การศึกษานี้พบผู้ป่วยที่เป็นตับแข็ง (fibrosis score >14 kPa) ในกลุ่ม HIV/HCV สูงถึง 24.1% ซึ่งสูงกว่าที่มีรายงานใน Europe (13%) [63] และ Brazil (8.5%) [64]

การศึกษาจากตะวันตกพบว่า HCV genotype 1 มีแนวโน้มจะมี HCV RNA สูงกว่า HCV genotype 3 [65, 66] แต่การศึกษานี้พบผู้ป่วย HCV genotype 6 แนวโน้มจะมี HCV RNA สูงกว่า 1 และ 3 ถึงแม้ HCV genotype 6 จะมี HCV RNA สูงกว่าและจำนวนคนที่มี HCV RNA > 800, 000 copies/ml มากกว่าแต่ มี fibrosis score ต่ำกว่าและจำนวนคนที่มี advanced liver fibrosis น้อยกว่า genotype 3 และ 1 ในการศึกษาจากต่างประเทศในผู้ป่วย HCV mono จำนวน 314 คน [67] และ HIV/HCV จำนวน 283 คน [68] พบว่า HCV genotype 3 มีโอกาสเกิด advanced liver fibrosis มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การศึกษานี้พบ HCV genotype 3 มีแนวโน้มจะเกิด advanced liver fibrosis มากกว่าและ HCV genotype 6 มีโอกาสเกิด advanced liver fibrosis น้อยกว่า

ในการศึกษานี้ไม่พบว่า HCV RNA levels มีความสัมพันธ์กับการเกิด severe liver fibrosis ซึ่งผลนี้ก็เหมือนกับการศึกษาอื่นๆ จากต่างประเทศ [68, 69].

HCV genotype 6 มีการตอบสนองต่อการรักษาปานกลาง [70] ระหว่าง HCV genotypes 3 และ 1 [70] ข้อมูลนี้ ร่วมกับว่า genotype 6 มี advanced liver fibrosis น้อยกว่า ทำให้คนไข้สามารถรอการศึกษาการรักษาด้วยยาตัวใหม่ โดยไม่จำเป็นต้องใช้ร่วมกับ pegylated interferon/ribavirin ได้ ถึงแม้ ALT ที่ผิดปกติจะไม่ใช่ marker of liver fibrosis ที่ดีนัก โดยเฉพาะใน HIV/HCV แต่การศึกษานี้พบว่า Fib-4 score มีความสัมพันธ์กับการเกิด advanced liver fibrosis โดยเฉพาะ Fib-4 score > 1.45 มีความเสี่ยงในการพบ advanced liver fibrosis ถึง 7 เท่าเมื่อเทียบกับคนที่มี Fib-4 score <1.45 ซึ่ง Fib-4 น่าจะใช้เป็นตัวติดตามและทำนายได้ว่าผู้ป่วยกลุ่มนี้มี advanced liver fibrosis หรือไม่ โดยเฉพาะในที่ไม่มีเครื่อง Fibroscan ซึ่งมีราคาแพง หรือไม่ สามารถทำ liver biopsy ได้ Fib-4 เองราคาถูกมากและสะดวก การคำนวณก็ง่าย ต้องการแค่ ALT, AST, platelet และอายุของผู้ป่วยซึ่งผลเลือดเหล่านี้มีการตรวจอยู่แล้ว ไม่ต้องตรวจเพิ่ม [71, 72].

การศึกษานี้พบว่า Vitamin D insufficiency/deficiency (25(OH) D levels < 30 ng/ml) เพิ่มความเสี่ยงในการเกิด advanced liver fibrosis ถึง 3 เท่า และนอกจากนั้นในต่างประเทศ พบว่าระดับวิตามินดีที่ต่ำเกี่ยวข้องกับ severe liver fibrosis ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีสายพันธุ์ 1 [73, 74] และลดการตอบสนองต่อการรักษาด้วย pegylated interferon

วิตามินดีมีบทบาทสำคัญใน calcium homeostasis และการสร้างกระดูก ปัจจุบันพบว่าวิตามินดีมีบทบาทด้านอื่นด้วย เช่น ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย การอักเสบ การเกิดเยื่อพังผืดในตับ เป็นต้น [75] ระดับวิตามินดีที่ต้องการคือ ≥ 30 ng/mL เพราะถ้าต่ำกว่านี้จะทำให้ parathyroid hormone โดนกระตุ้น [75, 76] นอกจากนั้น ภาวะวิตามินดีที่ต่ำจะลดการตอบสนองต่อการรักษาด้วย Pegylated interferon (Peg-IFN)/ribavirin therapy [73, 77] การให้วิตามินดีทำให้การตอบสนองดีขึ้น โดยการศึกษาในต่างประเทศพบว่า early virological response (EVR) (94% vs 48%) และ SVR (86% vs 42%) ใน HCV genotype 1 รักษาด้วย Peg-IFN/ribavirin [78]

วิตามินดีควบคุมยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันถึงมากกว่า 200 ยีน [79] และยังมีผลเหมือนกับเป็นยาต้านไวรัสที่ยับยั้งการแบ่งตัวของไวรัสตับอักเสบซี

น้ำหนักตัวที่มากและการดื่มเหล้ามากกว่า 50 กรัมต่อวันก็มีผลต่อการเกิด advanced liver fibrosis [27, 63] แต่ในการศึกษานี้พบว่าไม่มีผล ซึ่งเหมือนกับการศึกษาของ Monto และคณะ [80] ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า ผู้ป่วยไม่ได้บอกความจริงทั้งหมดว่าดื่มเหล้าปริมาณเท่าใด

การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าในผู้ป่วย HIV/HCV ที่มี $CD4 < 500$ cells/mm³ และ nadir $CD4 < 250$ cells/mm³ มีความสัมพันธ์กับการเกิด advanced liver fibrosis [68, 80] แต่ในการศึกษานี้ซึ่งผู้ป่วย HIV/HCV กินยาต้านมาโดยเฉลี่ย 7 ปี พบเพียงการใช้ยา d4T มีผล โดยคนที่ได้หรือเคยได้ d4T เพิ่มความเสี่ยงในการเกิด advanced liver fibrosis ถึง 6 เท่า ซึ่งอาจจะมาจาก mitochondrial toxicity หรือ insulin resistance ส่วนการศึกษานี้ ยังสรุปไม่ได้ว่ายาต้านมีผลต่อการเกิด liver fibrosis หรือไม่ Macias และคณะพบว่าการใช้ยาในกลุ่ม protease inhibitors (PIs) ทำให้ลดการเกิด liver disease [81] แต่การศึกษานี้พบว่าการใช้ยา didanosine (ddI) เกี่ยวข้องกับการเกิด liver fibrosis [82] ผลการศึกษาจาก EuroSida group ก็ไม่พบว่าการให้ยาต้านรักษาเอชไอวีจะทำให้ลด progression of liver disease [63]

7. ข้อจำกัดของการศึกษานี้

1. Risk of HCV acquisition ผู้ป่วยอาจจะไม่ได้บอกความจริงว่าเคยใช้ยาเสพติด โดยเฉพาะในกลุ่ม MSM, heterosexual
2. Duration of HCV infection เป็นการคาดคะเนจากความเสี่ยงที่คนไข้มี เช่น การใช้เข็มฉีดยาครั้งแรก
3. ไม่มีผล Liver biopsy ทำให้ผลการประเมิน advanced liver fibrosis อาจจะไม่แม่นยำพอ แต่การตรวจด้วย Fibroscan ก็ได้รับการตรวจสอบความแม่นยำ (95%) เทียบกับ liver biopsy ทั้งใน HCV mono, HIV/HCV [71]
4. เป็นการศึกษาแบบ cross sectional study ทำให้ไม่สามารถประเมิน rate of liver fibrosis progression แต่จากที่ผู้ป่วยคาดว่าติดเชื้อมาประมาณ 15-17 ปี ทำให้พอทราบ stage of liver fibrosis
5. ไม่ได้มีการตรวจ bone mass density, calcium phosphate, parathyroid hormone, bone markers ทำให้ไม่สามารถบอกได้ว่าการที่วิตามินดีต่ำมีความสำคัญต่อ calcium homeostasis

8. สรุปผลการวิจัย

โดยสรุป การศึกษานี้พบ HCV genotype 3 (47%) เป็น genotype ที่พบบ่อยที่สุดทั้งใน HIV/HCV และ HCV ตามด้วย genotype 1 (34%) และ genotype 6 (18%) องค์ความรู้ใหม่ที่ได้จากโครงการนี้คือ การพบว่า ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีไทยมี IL-28B polymorphism ที่ตอบสนองดีต่อการรักษาสูงถึง 90% การเกิด significant liver fibrosis ซึ่งเป็นข้อบ่งชี้ในการรักษาสูงถึง 70% ในผู้ป่วย HIV/HCV การเกิด hepatotoxicity ตามหลังการให้ยาต้านเอชไอวีในผู้ป่วย HIV/HCV > HIV/HBV > HIV mono การพบการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในผู้ป่วยเอชไอวีกลุ่ม MSM และ heterosexual risk ที่ไม่ใช้ยาเสพติด การพบภาวะขาดวิตามินดีสูงถึง 70% และมีผลต่อการเกิด advanced liver fibrosis ซึ่งผลการศึกษาที่ได้ ทำให้มีผลต่อการรักษาผู้ป่วยเอชไอวีและไวรัสตับอักเสบบีในประเทศไทย

เนื่องจากการรักษาเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ซึ่งอาศัยอยู่ใน cytoplasm ของ cells ทำให้มีโอกาสรักษาให้หายขาดได้ แต่ถ้าไม่รักษาจะทำให้เกิดตับแข็ง มะเร็งตับ โดยเฉพาะใน ผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีร่วมด้วยจะทำให้ ตับแข็ง มะเร็งตับ เป็นเร็ว และเป็นมากขึ้น ซึ่งจากการศึกษานี้ก็พบว่าผู้ป่วย HIV/HCV จำนวน 24% ในกลุ่ม HIV/HCV มีภาวะตับแข็งแล้ว เมื่อเทียบกับ 12% ในกลุ่ม HCV mono ซึ่งข้อมูลนี้ แสดงให้เห็นว่า ผู้ป่วยที่มี significant liver fibrosis (fibrosis score >7.2kPa) ควรได้รับการรักษา โดยเฉพาะ ในกลุ่มที่มี HCV genotype non 1 และมี IL-28B major allele นอกจากนั้นในผู้ป่วยที่มี advanced liver fibrosis ควรจะมีการคัดกรอง hepatocellular carcinoma อย่างเป็นระบบ

การรักษาไวรัสตับอักเสบบีโดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อเอชไอวีร่วมด้วย นอกจากจะลดการเกิดตับแข็ง และมะเร็งตับแล้ว ยังลดการเกิด hepatotoxicity หลังให้ยา และลดการกระจายเชื้อสู่คู่นอน โดยเฉพาะกลุ่มชายที่มีเพศสัมพันธ์กับชาย

9. คำแนะนำจากการศึกษาวิจัย

1. ในผู้ป่วยที่มี significant liver fibrosis ควรจะได้รับการรักษา โดยเฉพาะกลุ่มที่ตอบสนองดี เช่น HCV genotype 3, IL-28B polymorphism ควรจะได้รับการพิจารณาให้รักษาก่อนเพราะตอบสนองดี ปัจจุบันยา pegylated interferon/ribavirin ได้ถูกบรรจุในบัญชียาหลักแห่งชาติแล้ว และสามารถใช้ได้ในระบบหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ การรักษามีค่าใช้จ่ายสูงและผลข้างเคียงก็สูง การเลือกกลุ่มผู้ป่วยที่เหมาะสม และสมควรรักษาจะทำให้การรักษามีความคุ้มค่ามากขึ้น ปัจจุบันมีการศึกษาการใช้ยาต้านไวรัสตับอักเสบซีตัวใหม่หลายขนาน ซึ่งสามารถให้วันละ 1 เม็ดเป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยไม่ต้องใช้กับ pegylated interferon/ribavirin คาดว่า ในปี 2014-2015 ยากลุ่มนี้จะได้รับการขึ้นทะเบียนให้รักษา HCV ดังนั้นในกลุ่มที่มี liver fibrosis ไม่มากและเป็น genotype 1 อาจจะรอยาตัวใหม่ได้

2. เนื่องจากตรวจพบภาวะการขาดวิตามินดีสูง และวิตามินดีเกี่ยวข้องกับ กระดูกบาง ภูมิคุ้มกัน การเกิด เบาหวาน ความดัน โรคหัวใจ และอื่น ๆ นอกจากนั้นยังสัมพันธ์กับการเกิด liver fibrosis และ การตอบสนองต่อการรักษาด้วย Pegylated interferon/ribavirin ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีโดยเฉพาะมีการติดเชื้อเอชไอวีร่วมด้วย ซึ่งจะมีการใช้ยาต้านบางตัวเช่น efavirenz ทำให้ระดับวิตามินดีต่ำมากขึ้น หรือ tenofovir ทำให้มีกระดูกบาง ดังนั้นควรจะมีการประเมินภาวะวิตามินดี และควรจะได้วิตามินดีชดเชย

3. เนื่องจากพบการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีในผู้ป่วยเอชไอวีที่ไม่ได้ใช้ยาเสพติด รับเลือด หรือการสักต่างๆ ผู้ป่วยกลุ่มนี้ควรได้รับการตรวจคัดกรองว่ามีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีร่วมด้วยหรือไม่

4. ผู้ป่วยที่มี advanced liver fibrosis ควรจะมีการตรวจคัดกรองมะเร็งตับเป็นระยะด้วยอัลตราซาวด์ และ/หรือ alpha-fetoprotein และควรจะมีการตรวจว่ามีภูมิคุ้มกันต่อไวรัสตับอักเสบบีหรือไม่ ถ้าไม่มีก็ควรจะได้รับ การฉีดวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบี

5. ควรจะเริ่มยาต้านให้เร็วในกลุ่ม HIV/HCV เพราะ HIV virus กระตุ้นการแบ่งตัวของ HCV virus

6. Fib-4 score มีความสัมพันธ์กับการเกิด advanced liver fibrosis โดยเฉพาะ Fib-4 score > 1.45 น่าจะใช้เป็นตัวติดตามและทำนายได้ว่าผู้ป่วยกลุ่มนี้มี advanced liver fibrosis หรือไม่ โดยเฉพาะในที่ไม่มีเครื่อง Fibroscan ซึ่งมีราคาแพง หรือไม่สามารถทำ liver biopsy ได้

7. ควรจะมีการพัฒนาการตรวจ HCV RNA, HCV Genotype, IL28-B เป็นแบบ in house เพื่อที่จะได้ ราคาถูกลงและใช้กับคนไข้ได้มากขึ้น เพราะตัวแปรเหล่านี้ โดยเฉพาะ HCV RNA และ HCV Genotype มีความ จำเป็นต่อการดูแลรักษาไวรัสตับอักเสบซี

10. เอกสารอ้างอิงของการศึกษาวิจัย

1. Amin J, Kaye M, Skidmore S, Pillay D, Cooper DA, Dore GJ. **HIV and hepatitis C coinfection within the CAESAR study.** *HIV Med* 2004;5:174-179.
2. Rockstroh JK, Mocroft A, Soriano V, Tural C, Losso MH, Horban A, *et al.* **Influence of hepatitis C virus infection on HIV-1 disease progression and response to highly active antiretroviral therapy.** *J Infect Dis* 2005;192:992-1002.
3. Zhou J, Dore GJ, Zhang F, Lim PL, Chen YM. **Hepatitis B and C virus coinfection in The TREAT Asia HIV Observational Database.** *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22:1510-1518.
4. Sungkanuparph S, Vibhagool A, Manosuthi W, Kiertiburanakul S, Atamasirikul K, Aumkhyan A, Thakkestian A. **Prevalence of hepatitis B virus and hepatitis C virus co-infection with human immunodeficiency virus in Thai patients: a tertiary-care-based study.** *J Med Assoc Thai* 2004;87:1349-1354.
5. Sungkanuparph S, Wongprasit P, Manosuthi W, Atamasirikul K. **Compliance with hepatitis B and hepatitis C virus infection screening among HIV-1 infected patients in a resource-limited setting.** *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2008;39:863-866.
6. Law WP, Dore GJ, Duncombe CJ, Mahanontharit A, Boyd MA, Ruxrungtham K, *et al.* **Risk of severe hepatotoxicity associated with antiretroviral therapy in the HIV-NAT Cohort, Thailand, 1996-2001.** *Aids* 2003;17:2191-2199.
7. Chanchanerd P, Paris RM, Torugsa K, de Souza M, Khin Saw Aye M, Chitpong A, Brown AE. **High frequency of HIV-1 and hepatitis C co-infection among young Thai men: evidence for a changing pattern of HIV transmission in Thailand.** *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2003;34:580-582.
8. Hansurabhanon T, Jiraphongsa C, Tunsakun P, Sukbunsung R, Bunyamanee B, Kuirat P, *et al.* **Infection with hepatitis C virus among intravenous-drug users: prevalence, genotypes and risk-factor-associated behaviour patterns in Thailand.** *Ann Trop Med Parasitol* 2002;96:615-625.
9. Garten RJ, Zhang J, Lai S, Liu W, Chen J, Yu XF. **Coinfection with HIV and hepatitis C virus among injection drug users in southern China.** *Clin Infect Dis* 2005;41 Suppl 1:S18-24.
10. Salmon D, Bani-Sadr F, Loko MA, Stitou H, Gervais A, Durant J, *et al.* **Insulin resistance is associated with a higher risk of hepatocellular carcinoma in cirrhotic HIV/HCV-co-infected patients: results from ANRS CO13 HEPACVIH.** *J Hepatol*;56:862-868.
11. Wit FW, Weverling GJ, Weel J, Jurriaans S, Lange JM. **Incidence of and risk factors for severe hepatotoxicity associated with antiretroviral combination therapy.** *J Infect Dis* 2002;186:23-31.
12. Soto B, Sanchez-Quijano A, Rodrigo L, del Olmo JA, Garcia-Bengoechea M, Hernandez-Quero J, *et al.* **Human immunodeficiency virus infection modifies the natural history**

- of chronic parenterally-acquired hepatitis C with an unusually rapid progression to cirrhosis. *J Hepatol* 1997,26:1-5.
13. Thomas DL, Astemborski J, Rai RM, Anania FA, Schaeffer M, Galai N, *et al.* The natural history of hepatitis C virus infection: host, viral, and environmental factors. *JAMA* 2000,284:450-456.
 14. Mehta SH, Cox A, Hoover DR, Wang XH, Mao Q, Ray S, *et al.* Protection against persistence of hepatitis C. *Lancet* 2002,359:1478-1483.
 15. Polis CB, Shah SN, Johnson KE, Gupta A. Impact of maternal HIV coinfection on the vertical transmission of hepatitis C virus: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2007,44:1123-1131.
 16. Graham CS, Baden LR, Yu E, Mrus JM, Carnie J, Heeren T, Koziel MJ. Influence of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2001,33:562-569.
 17. Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, Charlotte F, Azria F, Coutellier A, *et al.* Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. The Multivirc Group. *Hepatology* 1999,30:1054-1058.
 18. Mohsen AH, Easterbrook PJ, Taylor C, Portmann B, Kulasegaram R, Murad S, *et al.* Impact of human immunodeficiency virus (HIV) infection on the progression of liver fibrosis in hepatitis C virus infected patients. *Gut* 2003,52:1035-1040.
 19. Eyster ME, Sherman KE, Goedert JJ, Katsoulidou A, Hatzakis A. Prevalence and changes in hepatitis C virus genotypes among multitransfused persons with hemophilia. The Multicenter Hemophilia Cohort Study. *J Infect Dis* 1999,179:1062-1069.
 20. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Orlando ME, Raimondo G. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med* 1999,341:22-26.
 21. Nunez M. Hepatotoxicity of antiretrovirals: incidence, mechanisms and management. *J Hepatol* 2006,44:S132-139.
 22. Sanchez-Conde M, Berenguer J, Miralles P, Alvarez F, Carlos Lopez J, Cosin J, *et al.* Liver biopsy findings for HIV-infected patients with chronic hepatitis C and persistently normal levels of alanine aminotransferase. *Clin Infect Dis* 2006,43:640-644.
 23. Bica I, McGovern B, Dhar R, Stone D, McGowan K, Scheib R, Snyderman DR. Increasing mortality due to end-stage liver disease in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 2001,32:492-497.
 24. Rosenthal E, Poiree M, Pradier C, Perronne C, Salmon-Ceron D, Geffray L, *et al.* Mortality due to hepatitis C-related liver disease in HIV-infected patients in France (Mortavic 2001 study). *AIDS* 2003,17:1803-1809.
 25. Salmon-Ceron D, Lewden C, Morlat P, Bevilacqua S, Jouglu E, Bonnet F, *et al.* Liver disease as a major cause of death among HIV infected patients: role of hepatitis C and B viruses and alcohol. *J Hepatol* 2005,42:799-805.

26. Puoti M, Bruno R, Soriano V, Donato F, Gaeta GB, Quinzan GP, *et al.* **Hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients: epidemiological features, clinical presentation and outcome.** *AIDS* 2004,18:2285-2293.
27. Benhamou Y, Di Martino V, Bochet M, Colombet G, Thibault V, Liou A, *et al.* **Factors affecting liver fibrosis in human immunodeficiency virus-and hepatitis C virus-coinfected patients: impact of protease inhibitor therapy.** *Hepatology* 2001,34:283-287.
28. Qurishi N, Kreuzberg C, Luchters G, Effenberger W, Kupfer B, Sauerbruch T, *et al.* **Effect of antiretroviral therapy on liver-related mortality in patients with HIV and hepatitis C virus coinfection.** *Lancet* 2003,362:1708-1713.
29. Marine-Barjoan E, Saint-Paul MC, Pradier C, Chaillou S, Anty R, Michiels JF, *et al.* **Impact of antiretroviral treatment on progression of hepatic fibrosis in HIV/hepatitis C virus co-infected patients.** *AIDS* 2004,18:2163-2170.
30. Peters L, Mocroft A, Soriano V, Rockstroh JK, Losso M, Valerio L, *et al.* **Hepatitis C virus coinfection does not influence the CD4 cell recovery in HIV-1-infected patients with maximum virologic suppression.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009,50:457-463.
31. Hammer SM, Eron JJ, Jr., Reiss P, Schooley RT, Thompson MA, Walmsley S, *et al.* **Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2008 recommendations of the International AIDS Society-USA panel.** *JAMA* 2008,300:555-570.
32. European AIDS Clinical Society. **EACS Guidelines Clinical management and treatment of clinical hepatitis C and C co-infection in adults version 6 November 2012.**
33. Torriani FJ, Rodriguez-Torres M, Rockstroh JK, Lissen E, Gonzalez-Garcia J, Lazzarin A, *et al.* **Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients.** *N Engl J Med* 2004,351:438-450.
34. Chung RT, Andersen J, Volberding P, Robbins GK, Liu T, Sherman KE, *et al.* **Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin versus interferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected persons.** *N Engl J Med* 2004,351:451-459.
35. Carrat F, Bani-Sadr F, Pol S, Rosenthal E, Lunel-Fabiani F, Benzekri A, *et al.* **Pegylated interferon alfa-2b vs standard interferon alfa-2b, plus ribavirin, for chronic hepatitis C in HIV-infected patients: a randomized controlled trial.** *JAMA* 2004,292:2839-2848.
36. Laguno M, Murillas J, Blanco JL, Martinez E, Miquel R, Sanchez-Tapias JM, *et al.* **Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients.** *AIDS* 2004,18:F27-36.
37. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, *et al.* **Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance.** *Nature* 2009,461:399-401.
38. Liu CH, Liu CJ, Lin CL, Liang CC, Hsu SJ, Yang SS, *et al.* **Pegylated interferon-alpha-2a plus ribavirin for treatment-naïve Asian patients with hepatitis C virus genotype 1 infection: a multicenter, randomized controlled trial.** *Clin Infect Dis* 2008,47:1260-1269.

39. O'Brien TR. **Interferon-alfa, interferon-lambda and hepatitis C.** *Nat Genet* 2009,41:1048-1050.
40. Siren J, Pirhonen J, Julkunen I, Matikainen S. **IFN-alpha regulates TLR-dependent gene expression of IFN-alpha, IFN-beta, IL-28, and IL-29.** *J Immunol* 2005,174:1932-1937.
41. Marcello T, Grakoui A, Barba-Spaeth G, Machlin ES, Kotenko SV, MacDonald MR, Rice CM. **Interferons alpha and lambda inhibit hepatitis C virus replication with distinct signal transduction and gene regulation kinetics.** *Gastroenterology* 2006,131:1887-1898.
42. Kanistanon D, Neelamek M, Dharakul T, Songsivilai S. **Genotypic distribution of hepatitis C virus in different regions of Thailand.** *J Clin Microbiol* 1997,35:1772-1776.
43. Sistayanarain A, Kunthalert D, Vipsoongnern Y. **A shift in the hepatitis C virus genotype dominance in blood donor samples from Thailand.** *Mol Biol Rep*,38:4287-4290.
44. Jutavijittum P, Jiviriyawat Y, Yousukh A, Pantip C, Maneekarn N, Toriyama K. **Genotypic distribution of hepatitis C virus in voluntary blood donors of northern Thailand.** *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2009,40:471-479.
45. Sunanchaikarn S, Theamboonlers A, Chongsrisawat V, Yoocharoen P, Tharmaphornpilas P, Warinsathien P, *et al.* **Seroepidemiology and genotypes of hepatitis C virus in Thailand.** *Asian Pac J Allergy Immunol* 2007,25:175-182.
46. Lu L, Nakano T, He Y, Fu Y, Hagedorn CH, Robertson BH. **Hepatitis C virus genotype distribution in China: predominance of closely related subtype 1b isolates and existence of new genotype 6 variants.** *J Med Virol* 2005,75:538-549.
47. Zhou DX, Tang JW, Chu IM, Cheung JL, Tang NL, Tam JS, Chan PK. **Hepatitis C virus genotype distribution among intravenous drug user and the general population in Hong Kong.** *J Med Virol* 2006,78:574-581.
48. Inoue Y, Sulaiman HA, Matsubayashi K, Julitasari, Iinuma K, Ansari A, *et al.* **Genotypic analysis of hepatitis C virus in blood donors in Indonesia.** *Am J Trop Med Hyg* 2000,62:92-98.
49. Vandelli C, Renzo F, Romano L, Tisminetzky S, De Palma M, Stroffolini T, *et al.* **Lack of evidence of sexual transmission of hepatitis C among monogamous couples: results of a 10-year prospective follow-up study.** *Am J Gastroenterol* 2004,99:855-859.
50. Taylor LE, Holubar M, Wu K, Bosch RJ, Wyles DL, Davis JA, *et al.* **Incident hepatitis C virus infection among US HIV-infected men enrolled in clinical trials.** *Clin Infect Dis*,52:812-818.
51. van der Helm JJ, Prins M, del Amo J, Bucher HC, Chene G, Dorrucchi M, *et al.* **The hepatitis C epidemic among HIV-positive MSM: incidence estimates from 1990 to 2007.** *AIDS*,25:1083-1091.
52. Urbanus AT, van de Laar TJ, Stolte IG, Schinkel J, Heijman T, Coutinho RA, Prins M. **Hepatitis C virus infections among HIV-infected men who have sex with men: an expanding epidemic.** *AIDS* 2009,23:F1-7.

53. Matthews-Greer JM, Caldito GC, Adley SD, Willis R, Mire AC, Jamison RM, *et al.* Comparison of hepatitis C viral loads in patients with or without human immunodeficiency virus. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:690-694.
54. van Griensven F, Thienkrua W, McNicholl J, Wimonasate W, Chaikummao S, Chonwattana W, *et al.* Evidence of an explosive epidemic of HIV infection in a cohort of men who have sex with men in Bangkok, Thailand. *AIDS*.
55. Aparicio E, Parera M, Franco S, Perez-Alvarez N, Tural C, Clotet B, Martinez MA. IL28B SNP rs8099917 is strongly associated with pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy treatment failure in HCV/HIV-1 coinfecting patients. *PLoS One*;5:e13771.
56. Fukuhara T, Taketomi A, Motomura T, Okano S, Ninomiya A, Abe T, *et al.* Variants in IL28B in liver recipients and donors correlate with response to peginterferon and ribavirin therapy for recurrent hepatitis C. *Gastroenterology*.
57. Labie D, Gilgenkrantz H. [IL28 (interferon lambda3) gene polymorphisms and response to IFN-alpha treatment in patients infected with hepatitis virus C]. *Med Sci (Paris)*;26:225-226.
58. Stattermayer AF, Stauber R, Hofer H, Rutter K, Beinhardt S, Scherzer TM, *et al.* Impact of IL28B genotype on the early and sustained virologic response in treatment-naïve patients with chronic hepatitis C. *Clin Gastroenterol Hepatol*.
59. Grebely J, Petoumenos K, Hellard M, Matthews GV, Suppiah V, Applegate T, *et al.* Potential role for interleukin-28B genotype in treatment decision-making in recent hepatitis C virus infection. *Hepatology*;52:1216-1224.
60. Pineda JA, Caruz A, Rivero A, Neukam K, Salas I, Camacho A, *et al.* Prediction of response to pegylated interferon plus ribavirin by IL28B gene variation in patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus. *Clin Infect Dis*;51:788-795.
61. Rallon NI, Naggie S, Benito JM, Medrano J, Restrepo C, Goldstein D, *et al.* Association of a single nucleotide polymorphism near the interleukin-28B gene with response to hepatitis C therapy in HIV/hepatitis C virus-coinfecting patients. *AIDS*;24:F23-29.
62. Aparicio E PM, Franco S, Perez-Alvarez N, Tural C, Clotet C, Martinez MA. IL28B SNP rs8099917 Is Strongly Associated with Pegylated Interferon- α and Ribavirin Therapy Treatment Failure in HCV/HIV-1 Coinfecting Patients. *PLoS ONE* 2010;5:e13771.
63. Martin-Carbonero L, Benhamou Y, Puoti M, Berenguer J, Mallolas J, Quereda C, *et al.* Incidence and predictors of severe liver fibrosis in human immunodeficiency virus-infected patients with chronic hepatitis C: a European collaborative study. *Clin Infect Dis* 2004;38:128-133.
64. Mendes-Correa MC, Widman A, Brussi ML, Guastini CF, Gianini RJ. Incidence and predictors of severe liver fibrosis in HIV-infected patients with chronic hepatitis C in Brazil. *AIDS Patient Care STDS* 2008;22:701-707.
65. Garcia F, Roldan C, Hernandez-Quero J, Bernal MC, Martinez MA, Lopez MA, *et al.* Relationship between viral genotype and viral load in patients with chronic hepatitis C. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996;15:884-887.

66. Yoo TW, Donfield S, Lail A, Lynn HS, Daar ES. **Effect of hepatitis C virus (HCV) genotype on HCV and HIV-1 disease.** *J Infect Dis* 2005,191:4-10.
67. Cholet F, Noursbaum JB, Richecoeur M, Oger E, Cauvin JM, Lagarde N, *et al.* **Factors associated with liver steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C patients.** *Gastroenterol Clin Biol* 2004,28:272-278.
68. Barreiro P, Martin-Carbonero L, Nunez M, Rivas P, Morente A, Simarro N, *et al.* **Predictors of liver fibrosis in HIV-infected patients with chronic hepatitis C virus (HCV) infection: assessment using transient elastometry and the role of HCV genotype 3.** *Clin Infect Dis* 2006,42:1032-1039.
69. Collazos J, Carton JA, Asensi V. **Immunological status does not influence hepatitis c virus or liver fibrosis in HIV-hepatitis C virus-coinfected patients.** *AIDS Res Hum Retroviruses*,27:383-389.
70. Tangkijvanich P, Komolmit P, Mahachai V, Poovorawan K, Akkarathamrongsin S, Poovorawan Y. **Response-guided therapy for patients with hepatitis C virus genotype 6 infection: a pilot study.** *J Viral Hepat*,19:423-430.
71. Castera L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, *et al.* **Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C.** *Gastroenterology* 2005,128:343-350.
72. Boursier J, Vergniol J, Sawadogo A, Dakka T, Michalak S, Gallois Y, *et al.* **The combination of a blood test and Fibroscan improves the non-invasive diagnosis of liver fibrosis.** *Liver Int* 2009,29:1507-1515.
73. Petta S, Camma C, Scazzone C, Tripodo C, Di Marco V, Bono A, *et al.* **Low vitamin D serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C.** *Hepatology*,51:1158-1167.
74. Terrier B, Carrat F, Geri G, Pol S, Piroth L, Halfon P, *et al.* **Low 25-OH vitamin D serum levels correlate with severe fibrosis in HIV-HCV co-infected patients with chronic hepatitis.** *J Hepatol*,55:756-761.
75. Holick MF. **Vitamin D deficiency.** *N Engl J Med* 2007,357:266-281.
76. Heaney RP. **The Vitamin D requirement in health and disease.** *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005,97:13-19.
77. Mandorfer M, Reiberger T, Payer BA, Ferlitsch A, Breitenecker F, Aichelburg MC, *et al.* **Low vitamin D levels are associated with impaired virologic response to PEGIFN + RBV therapy in HIV-hepatitis C virus coinfecting patients.** *AIDS*,27:227-232.
78. Abu-Mouch S, Fireman Z, Jarchovsky J, Zeina AR, Assy N. **Vitamin D supplementation improves sustained virologic response in chronic hepatitis C (genotype 1)-naive patients.** *World J Gastroenterol*,17:5184-5190.
79. Holick MF. **Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis.** *Am J Clin Nutr* 2004,79:362-371.

80. Monto A, Kakar S, Dove LM, Bostrom A, Miller EL, Wright TL. **Contributions to hepatic fibrosis in HIV-HCV coinfectd and HCV monoinfected patients.** *Am J Gastroenterol* 2006,101:1509-1515.
81. Macias J, Mira JA, Lopez-Cortes LF, Santos I, Giron-Gonzalez JA, Gonzalez-Serrano M, *et al.* **Antiretroviral therapy based on protease inhibitors as a protective factor against liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C.** *Antivir Ther* 2006,11:839-846.
82. Suarez-Zarracina T, Valle-Garay E, Collazos J, Montes AH, Carcaba V, Carton JA, Asensi V. **Didanosine (ddl) associates with increased liver fibrosis in adult HIV-HCV coinfectd patients.** *J Viral Hepat*,19:685-693.