



## บทที่ 1

### บทนำ

โรคตับอักเสบชนิดบี เป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งในปัจจุบันและเป็นปัญหาทางสาธารณสุขของประเทศไทย ในปัจจุบันพบว่าประชากรประมาณร้อยละ 7-10 ของทั้งประเทศที่เป็นพาหะนำเชื้อของโรคไวรัสตับอักเสบบี<sup>1,2,3</sup> ในประชากรที่เป็นพาหะของโรคไวรัสตับอักเสบบี มีโอกาสที่จะเป็นตับอักเสบเรื้อรัง โรคตับแข็งและโรคมะเร็งตับสูงกว่าประชากรทั่วไป จากการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่าประมาณร้อยละ 10-15 ของพาหะไวรัสตับอักเสบบีจะเป็นตับอักเสบเรื้อรัง<sup>4</sup> จากการศึกษาในประเทศไทยพบว่าร้อยละ 0.5 ของประชาชนเป็นตับอักเสบเรื้อรัง ร้อยละ 20-40 ของประชากรเหล่านั้นเป็นตับอักเสบชนิด chronic active hepatitis (CAH)<sup>5,6</sup> นอกจากนี้จากการศึกษาในประเทศเกาหลี ซึ่งเป็นประเทศหนึ่งที่มีอัตราความชุก (prevalence rate) ของการเป็นพาหะไวรัสบีใกล้เคียงประเทศไทยคือประมาณร้อยละ 10-15 พบว่าอัตราตายจากการเป็นโรคตับอักเสบ หรือโรคที่เกี่ยวข้องกับตับอักเสบเรื้อรังสูงถึง 79.3/1000<sup>7</sup> จึงนับว่าเป็นโรคที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขของประเทศไทย เนื่องจากในปัจจุบันมีกรรมวิธีที่สามารถใช้ในโรคตับอักเสบเรื้อรังโดยเฉพาะชนิด Chronic active hepatitis (CAH) ได้และแพทย์ส่วนใหญ่เชื่อว่า chronic persistent hepatitis (CPH) เป็นโรคที่มีภาวะการดำเนินของโรคไม่รุนแรง<sup>8,9</sup> และไม่เคยเปลี่ยนแปลงไปสู่ภาวะโรคตับแข็งหรือมะเร็งของตับ จึงจำเป็นอย่างยิ่งในการที่จะแยก CPH กับ CAH เพื่อประโยชน์ในการรักษา วิธีที่ใช้ในการแยกระหว่าง CAH กับ CPH ได้อย่างถูกต้องที่สุด คือ การตรวจเนื้อตับทางพยาธิวิทยา (liver biopsy) ซึ่งเป็นวิธีการค่อนข้างยุ่งยาก มีผลแทรกซ้อนในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยโดยวิธีนี้ตลอดจนต้องรับผู้ป่วย เข้าไว้ในโรงพยาบาลทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจและจำนวนเตียงที่จะรับผู้ป่วยรายอื่นฯ ถึงแม้ว่าปัจจุบันจะมีการ

ตรวจทางห้องปฏิบัติการอย่างอื่นที่จะช่วยวัดสมรรถภาพของตับ เช่น aminopyrine demethylation breath test<sup>10</sup> ก็เป็นวิธีการที่ยุ่งยากต้องใช้สารพวก aminopyrine ซึ่งเป็น nephrotoxicity และทำให้เกิด agranulocytosis ได้ทำให้มีคณพยายามจะหาการตรวจทางห้องปฏิบัติการ (Laboratory test) ชนิดอื่นที่สะดวกและไม่เป็นอันตรายต่อผู้ป่วยได้แก่ serum bile acid ซึ่งเป็น การตรวจทางห้องปฏิบัติการตัวหนึ่งที่มีการนำมาใช้ในการประเมินการทำงานของ ตับ

### ที่มาของการวิจัย (Background)

มีการตั้งสมมติฐานมานานแล้วว่าระดับ serum bile acids กับโรค ตับและทางเดินน้ำดี จะมีความสัมพันธ์กันหรือไม่ นับตั้งแต่ พ.ศ. 2491 Sherlock และ Walshe<sup>11</sup> พบว่ามีการเพิ่มของ serum bile acids ในโรคตับและ ทางเดินน้ำดี นับแต่นั้นมาก็มีการตรวจหา serum bile acids อีกหลายราย งาน โดยใช่วิธีต่างๆ ซึ่งในระยะแรกการวิเคราะห์ serum bile acids ค่อนข้าง ซับซ้อนและค่าที่ได้ไม่มีความแม่นยำ จึงทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับ จนปัจจุบันมีวิธี วิเคราะห์หา serum bile acids ที่สามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการธรรมดา และรายงานในระยะหลัง พบว่ามีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคตับและ ทางเดินน้ำดี เพราะฉะนั้นการวิจัยนี้จะมุ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับของ serum bile acids กับ histological feature แต่ก่อนอื่นควรจะมี ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับ serum bile acids ในหัวข้อต่อไปนี้ก่อน

## 1. Pathophysiology of bile acids

### 1.1 Bile acids synthesis

bile acids เป็นสารพวก cyclopentane perhydro-phenotrene ring system ซึ่งเป็นโครงสร้างแกนของ steroid bile acids จะถูกสร้างจาก cholesterol โดย hepatocyte ตัวที่ควบคุมการ

สร้าง bile acids ปัจจุบันยังไม่ทราบ แต่เชื่อว่า ตัวที่ควบคุมเป็นระดับของ bile acids ใน hepatocyte<sup>12</sup> ในคนปกติตับจะสร้าง bile acids 0.3-0.6 gm.<sup>13</sup> ในแต่ละวันแลสามารถเพิ่มเป็น 6-8 กรัม ใน 1 วัน จะเห็นว่าระดับของ bile acids ใน hepatocyte จะขึ้นกับ bile acids ที่ถูกซึมในลำไส้แล้วส่งต่อมายังตับนั่นคือ อัตราการสร้าง bile acids จะขึ้นกับจำนวน bile acids ใน enterohepatic circulation<sup>14</sup>

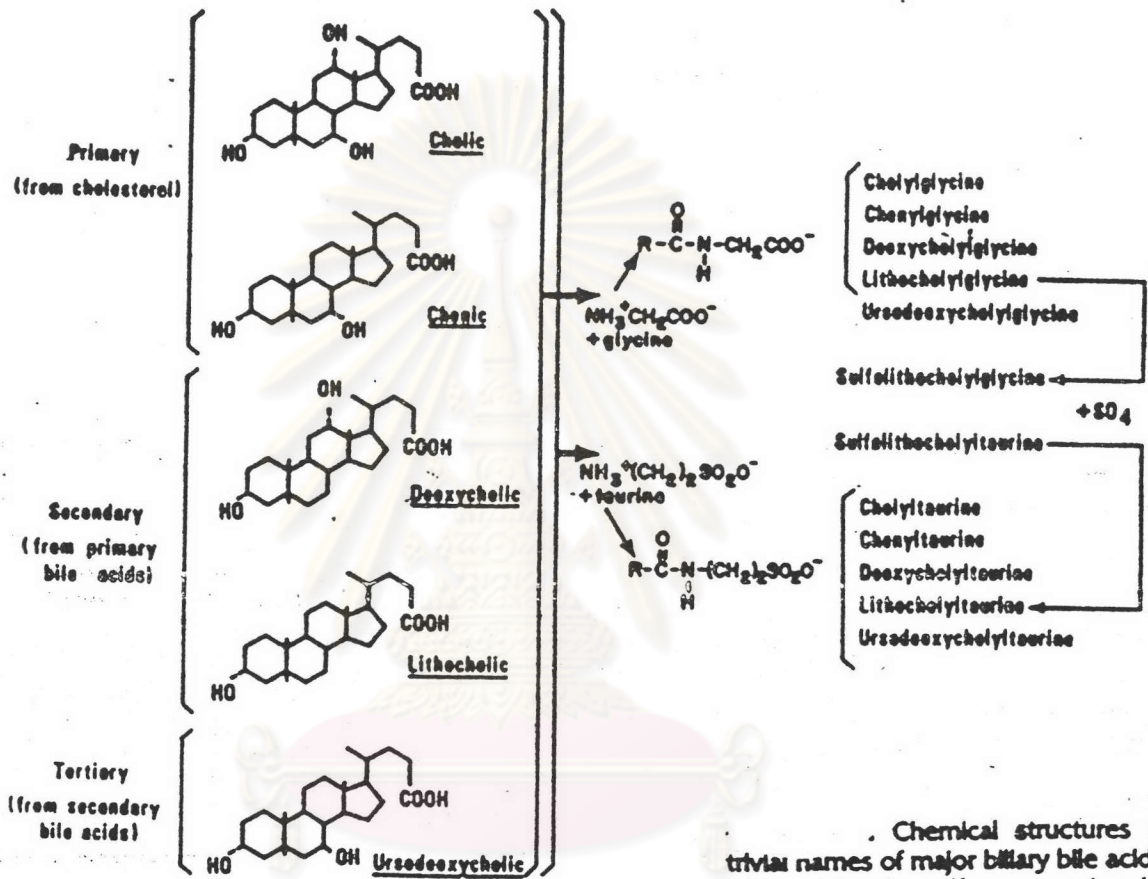
bile acids ที่ถูกสร้างโดยตับ จำแนกเป็น 3 ชนิด ดังนี้

(รูปที่ 1)

1. Primary bile acids เป็น bile acid ที่สร้างมาจาก cholesterol ประกอบด้วย cholic acid (CA) (3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -trihydroxy - 5 $\beta$  cholanic acid) และ chenodeoxycholic acid (CDCA) (3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -dihydroxy 5 $\beta$  - cholanic acid)
2. Secondary bile acids bacteria ในลำไส้ โดยเฉพาะ Bacteroides จะเปลี่ยน CA, CDCA โดย dehydroxylation ที่ตำแหน่งที่ 7 ได้ deoxycholic acid (DCA) (3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -dihydroxy - 5 $\beta$  - cholanic acid) และ lithocholic acid (LA) (3 $\alpha$ -hydroxy- 5 $\beta$ -cholanic acid)
3. tertiary bile acids คือ ursodeoxy cholic acid (UDCA) (3 $\alpha$ , 7 $\beta$  - dihydroxy - 5 $\beta$  - cholanic acid) เชื่อว่าได้จาก CDCA โดย reduction CA ใน liver<sup>15</sup>

bile acids แต่ละชนิด เมื่อผ่านตับจะถูก conjugate ด้วย glycine, taurine และ sulfate

### THE BILE ACIDS OF MAN

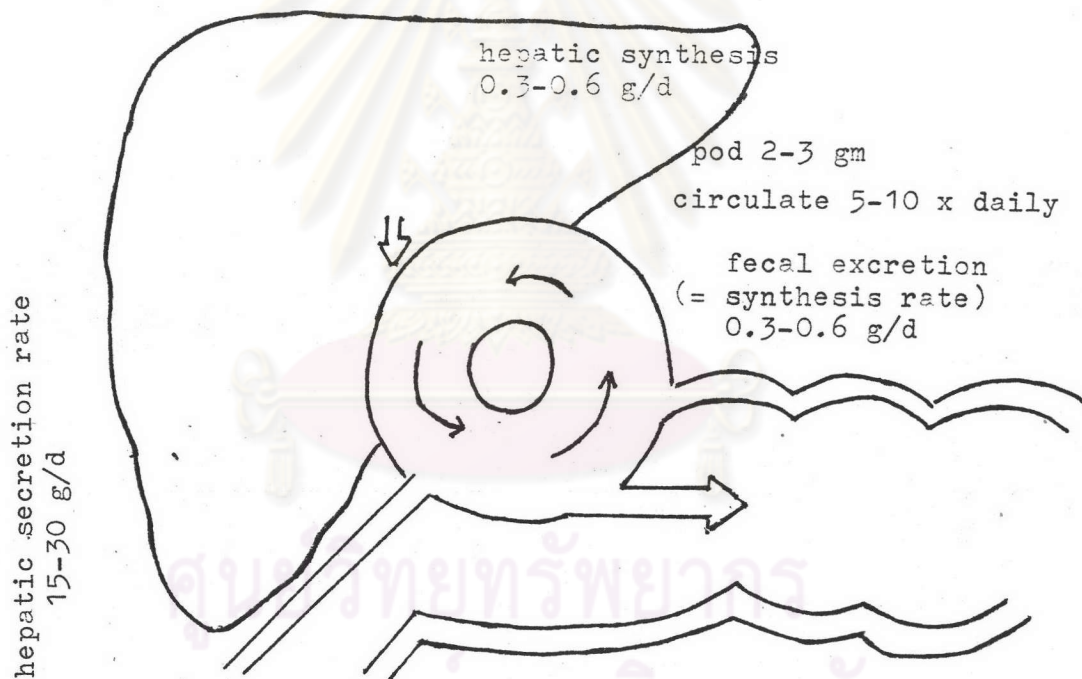


Chemical structures and trivial names of major biliary bile acids in human bile. The sulfate group is added at the 3 position of lithocholic.

รูปที่ 1 ชนิดต่างๆ ของ bile acids ที่ถูกสร้างในร่างกาย

## 1.2 Enterohepatic circulation of bile acids

bile acids จะมีการหมุนเวียนระหว่างลำไส้และตับ โดย เวลารับประทานอาหาร ร่างกายจะหลั่ง bile acids ออกจากตับ และถุงน้ำดี ออกมาทางท่อน้ำดีเข้าสู่ลำไส้เล็กและ bile acids จะถูกดูดซึมโดยส่วนลำไส้ ตั้งแต่ jejunum จนถึงลำไส้ใหญ่ ที่ jejunum จะเป็น passive absorption ของ conjugate CDCA เป็นส่วนใหญ่ ส่วนที่ ileum และ colon bile acids จะถูก deconjugate ก่อนเข้าสู่ portal vein เพื่อไปยังตับ ตับจะ เอา bile acids ที่ผ่านเข้ามานำมาใช้อีก (รูปที่ 2)<sup>16</sup>



รูปที่ ๒ Enterohepatic circulation ของ bile acids

มีการสร้าง bile acids วันละ 0.3-0.6 กรัม เพื่อทดแทนส่วนที่ขับถ่ายออกจากร่างกายไป 2 ทาง คือ

1. อุจจาระ จะออกในรูปของ DCA, LA เป็นส่วนใหญ่ ประมาณวันละ 0.3-0.6 กรัม และจะเพิ่มการสูญเสียถ้ามี intestinal mucosal damage
2. บัสสาวะ พบว่ามี secondary bile acids ในบัสสาวะแต่จำนวนน้อยมาก

### 1.3 Mechanism for increasing serum bile acids and related disease

ระดับ serum bile acids ส่วนใหญ่จะอยู่กับความสมดุลระหว่างจำนวน bile acids ที่ถูกดูดซึมโดยลำไส้ กับ hepatic bile acids clearance<sup>17,18</sup> นอกจากนี้อาจขึ้นอยู่กับอัตราการสร้าง, conjugation, transport และการขับน้ำดีเป็นส่วนน้อย ยกเว้นในกรณีที่ตับเสียหายมาก จนทำให้อัตราการสร้าง bile acids ลดลงมาก ทำให้ serum bile acids ค่าทั้งที่มี hepatic bile acids clearance ลดลง<sup>19,20</sup> โดยทั่วไปลำไส้ปกติจะสามารถดูดซึม bile acids ได้มากกว่า 98% เพราะฉะนั้นอาจกล่าวได้ว่าถ้าไม่มีโรคของลำไส้ serum bile acids จะเป็นการตรวจหาที่จะบ่งชี้การทำงานของตับ และมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคตับที่เกิดขึ้นดังที่ Sherlock ได้กล่าวไว้เมื่อ พ.ศ. 2491<sup>11</sup> หลังจากนั้นก็มีผู้ศึกษาอีกหลายราย ในระยะแรกผลที่ได้ไม่แน่นอน เนื่องจากมีปัญหาในด้านเทคนิคการวิเคราะห์ serum bile acids แต่ในช่วงสิบปีหลังที่มีการพัฒนาเทคนิคที่ใช้ตรวจไม่ว่าจะใช้วิธี enzymatic<sup>21</sup> หรือ radioimmunoassay<sup>22</sup> ซึ่งสามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการธรรมดา ทำให้มีการค้นคว้าอย่างกว้างขวาง จากรายงานต่างๆ พบว่าระดับ serum bile acids จะสูงขึ้นใน hepatobiliary disease เกือบทุกโรคตั้งแต่โรคเฉียบพลันจนถึงเรื้อรังและใน acute hepatitis<sup>23,24,25,26</sup> และพบว่าระดับสูงมากใน cholestatic liver disease<sup>23,25</sup> จากการที่

serum bile acids สูงขึ้นเกือบทุกโรคของ hepatobiliary disease จึงอาจกล่าวได้ว่า serum bile acids มี sensitivity ต่ำใน hepatobiliary diseases เมื่อเทียบกับ liver function tests อีก<sup>24</sup> ส่วน specificity นั้นจะดีขึ้นถ้าเราแบ่งผู้ป่วยออกเป็นกลุ่มย่อย เช่น กลุ่ม chronic parenchymal disease โดยเฉพาะพวก chronic hepatitis พบว่าใน CAH จะมี serum bile acids สูงกว่า CPH<sup>27,28,29,30,31</sup> และมีรายงานว่าการใช้ serum bile acids ติดตามผลการรักษา CAH จะมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงทาง histological feature<sup>23</sup> นอกจากนี้ยังพบว่า serum bile acids ขึ้นอยู่กับสิ่งต่อไปนี้

1. ผู้ป่วยเคยได้รับยาบางอย่าง เช่น steroid<sup>33</sup>, INH<sup>34</sup>, rifampicin<sup>34</sup>, bile salt<sup>35</sup>, cholestyramine<sup>36</sup> propranolol<sup>37</sup>, danazol<sup>38</sup>
2. ผู้ป่วยที่มีน้ำหนักเกินมาตรฐาน<sup>39</sup>
3. portacaval shunt<sup>40,41</sup>
4. หลังรับประทานอาหาร<sup>42,43,44</sup>
5. ขนาดของ gall bladder จะเป็นสัดส่วนผกผันกับระดับ serum bile acid<sup>45</sup>

ภาวะต่อไปนี้ไม่มีผลกระทบบต่อ serum bile acids

1. อายุและเพศ พบว่า serum bile acids ในเด็กจะลดลงเท่าผู้ใหญ่ เมื่อ อายุ 4-6 ปี หลังจากนั้นมีความคงที่<sup>46</sup>
2. ระดับ cholesterol ในเลือด รายงานปัจจุบันพบว่าไม่มีผลต่อ serum bile acids<sup>47,48</sup>

## 2. Bile acids assay methods.

ในปัจจุบันมีวิธีการตรวจหา bile acids หลายวิธี อาจหาในรูปแบบของ total bile acids หรือ bile acids แต่ละชนิด ในสมัยแรกใช้วิธี chromatographic technics<sup>49</sup> จนกระทั่งปัจจุบัน ได้มีการพัฒนามีหลายวิธีดังนี้

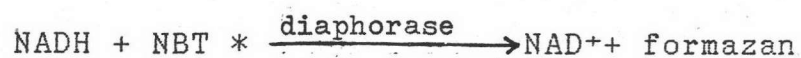
1. chromatographic technics ยุคแรกใช้วิธี simple paper chromatography ซึ่งได้ดัดแปลงมาเป็นเทคนิคต่างๆ ได้แก่

- a. thin layer chromatography วิธีทำค่อนข้างยุ่งยาก ผลที่ไม่แม่นยำ ปัจจุบันไม่นิยมใช้แล้ว
- b. high performance liquid chromatography<sup>50,51</sup> วิธีนี้สามารถหา bile acids แต่ละชนิดได้พร้อมกัน มีความแม่นยำสูง แต่วิธีการยุ่งยาก ไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการธรรมดาได้
- c. gas chromatography<sup>52,53</sup> เป็นวิธีการตรวจที่ยุ่งยาก เช่นเดียวกับ high performance liquid chromatography ใช้ในงานวิจัย ไม่เหมาะที่จะใช้ในห้องปฏิบัติการธรรมดา

2. radioimmunoassay (RIA)<sup>22,54</sup> เป็นวิธีที่สามารถนำมาใช้แทน chromatography เนื่องจากวิธีไม่ยุ่งยาก มี sensitivity และ sepecificity สูง สามารถหาชนิดต่างๆของ serum bile acids ได้ ปัจจุบันมี commercial kits จำหน่าย เพื่อใช้ในห้องปฏิบัติการธรรมดา แต่การใช้สารกัมมันตภาพรังสีอาจก่อให้เกิดอันตรายได้

3. enzymatic technics เริ่มพัฒนาในพ.ศ. 2495 โดยสกัด enzyme ที่เรียกว่า 3  $\alpha$  hydroxysteroid dehydrogenase จาก bacteria<sup>55</sup> หลังจากนั้นก็มีวิวัฒนาการจนกระทั่งปีพ.ศ. 2524 ได้มีผู้ดัดแปลงวิธีจนสามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการธรรมดาได้<sup>56</sup> โดยอาศัยหลักการตั้งสมการข้างล่าง

3 HSD



spectrophotometer

540 nM

\* NBT = nitrobluetetrazolium salt



จากสมการดังกล่าวซึ่งใช้ enzyme 3 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase เป็นการวัดระดับ total nonsulfated bile acids แต่ถ้าใช้ enzyme 7 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase จะได้ primary nonsulfated bile acids enzymatic technics เป็นวิธีที่ไววิธีหนึ่งวิธีการตรวจง่ายกว่าวิธี RIA ได้ มีผู้เปรียบเทียบกับวิธี RIA พบว่าได้ค่าใกล้เคียงกัน<sup>57,58</sup>



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย