

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH**

BỘ Y TẾ

PHẠM BÁ CHUNG

**MỐI LIÊN QUAN GIỮA SNP CỦA IL28B VỚI
GENOTYPE VÀ ĐỘT BIẾN VÙNG CORE CỦA
HCV**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

TP. Hồ Chí Minh – Năm 2018

MỞ ĐẦU

Bệnh viêm gan virút C là một trong những nguyên nhân chính gây xơ gan và ung thư gan. Theo Tổ chức Y tế thế giới, năm 2015 có 71 triệu người trên toàn thế giới nhiễm HCV mạn tính. Trung bình hàng năm có 399.000 người chết do các bệnh có liên quan đến virút viêm gan C (xơ gan, ung thư biểu mô tế bào gan và suy gan). Khác với viêm gan virút B, hiện tại vẫn chưa có vắc-xin phòng ngừa HCV [26], [51], [60].

Việt Nam chưa có một điều tra hệ thống dịch tễ học nhiễm HCV. Kết quả nghiên cứu của các tác giả dựa trên các đối tượng không mang tính chất đại diện với số lượng hạn chế nên tỷ lệ nhiễm HCV rất khác biệt từ 0,08 đến 3,9% [7], [13], [14], [19].

Theo Hiệp hội nghiên cứu bệnh gan của Mỹ, tỷ lệ nhiễm HCV của vùng Đông Nam Á là 1,5-3,5% [69].

Tuy tỷ lệ nhiễm HCV ở Việt Nam không cao như HBV (10-20%) [4] nhưng xét về mức độ trầm trọng thì bệnh nhân nhiễm HCV phải gánh chịu những biến chứng nặng nề hơn. Theo WHO, dưới 5% người lớn nhiễm HBV sẽ chuyển sang giai đoạn nhiễm mạn tính trong khi tỷ lệ này ở người nhiễm HCV là 60-80%. Trong số này, 15-30% bệnh nhân sẽ bị xơ gan trong vòng 20 năm. Bệnh nhân nhiễm HCV mạn tính sẽ là nguồn lây chủ yếu cho cộng đồng trong khi hiện tại vẫn chưa có sẵn một loại vắc-xin phòng ngừa viêm gan C [51].

Rất may, khác với viêm gan B, bệnh nhân viêm gan C có thể được chữa lành hoàn toàn. Chẳng hạn, với phác đồ Interferon-Ribavirin tỷ lệ đạt đáp ứng virút bền vững là 40-76%. [43], [70]. Ngoài việc dựa vào kiểu gen HCV, gần đây các nhà khoa học đã phát hiện kiểu gen IL28B có liên quan đến kết quả SVR ở bệnh nhân viêm gan C mạn tính khi sử dụng phác đồ này. Các bệnh nhân có kiểu gen tốt có SVR cao hơn hai lần bệnh nhân sở hữu kiểu gen hỗn hợp hay xấu [32], [41], [78], [86], [96]. Mặt khác, đột biến vùng core HCV

cũng đã được ghi nhận có ảnh hưởng đến kết quả điều trị và biến chứng ung thư biểu mô tế bào gan ở bệnh nhân viêm gan C mạn tính [23], [47], [57], [71].

Như vậy, hiện tại có ba chỉ dấu sinh học ảnh hưởng đến kết quả điều trị bệnh nhân viêm gan C với phác đồ Interferon-Ribavirin. Vấn đề đặt ra là các chỉ dấu sinh học này có liên hệ gì với nhau hay không? Hơn nữa, tại khu vực tỉnh Trà Vinh chưa thấy công bố một đề tài nghiên cứu về tình hình nhiễm HCV nên việc thực hiện đề tài “Mối liên quan giữa IL28B với genotype và đột biến vùng core HCV” sẽ giúp xác định tỷ lệ kiểu gen và đột biến vùng core HCV; tỷ lệ kiểu gen SNP rs12979860 của IL28B ở những bệnh nhân viêm gan virút C mạn tính khu vực Trà Vinh, cũng như khảo sát mối liên hệ giữa ba chỉ dấu sinh học: kiểu gen SNP rs12979860, kiểu gen HCV và đột biến vùng core HCV.

MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

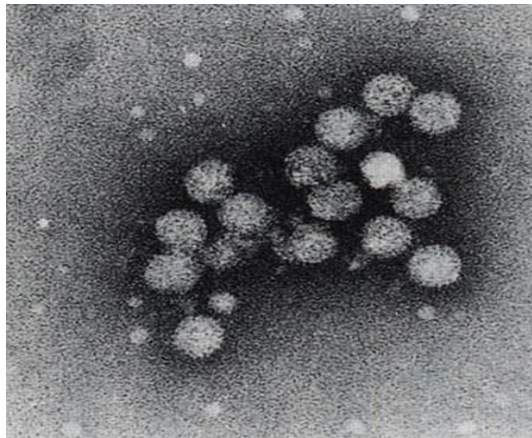
- 1. Xác định tỷ lệ kiểu gen HCV, đột biến vùng core HCV và kiểu gen SNP rs12979860 của IL28B.**
- 2. Xác định mối liên quan giữa đột biến vùng core HCV với kiểu gen HCV.**
- 3. Xác định mối liên quan giữa kiểu gen SNP rs12979860 của IL28B với kiểu gen HCV và đột biến vùng core HCV.**

Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CƠ BẢN CỦA HCV

1.1.1. LỊCH SỬ VIÊM GAN C

Trong thập niên 70, người ta nhận thấy gần 90% các viêm gan virút xảy ra sau truyền máu không có liên quan đến virút A cũng như virút B nên các trường hợp này được gọi là viêm gan không A-không B (non A-non B). Từ năm 1978, qua mô hình thực nghiệm trên khỉ Chimpanzee, người ta đã chứng minh có một tác nhân lây truyền qua đường tiêm chích có thể gây ra bệnh cảnh viêm gan không A-không B. Mãi đến năm 1989, nhờ vào phương pháp tạo dòng vô tính (clonage) và phân tích trình tự (sequencing) của genom virút, Choo và cộng sự lần đầu tiên đã phát hiện ra tác nhân đó chính là virút viêm gan C. Tuy nhiên, các hạt tử của virút viêm gan C chỉ mới được quan sát và mô tả dưới kính hiển vi điện tử từ năm 1994.

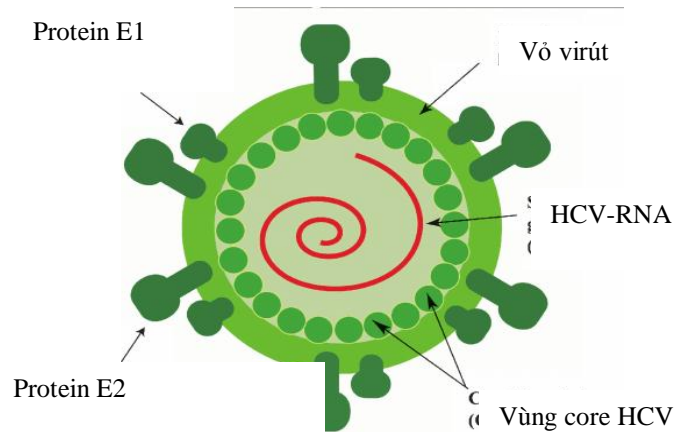


Hình 1.1. HCV dưới kính hiển vi điện tử

“Nguồn: Universitätsklinikum Heidelberg, 2012” [53]

1.1.2. CẤU TRÚC CỦA VIRÚT VIÊM GAN C

HCV là virút đầu tiên được phát hiện bằng kỹ thuật sinh học phân tử, thuộc họ *Flaviviridae*, giống *Hepacivirus*. Virút có đường kính 55-65 nm, trọng lượng phân tử vào khoảng 4.10⁶ daltons. Bộ gen gồm một sợi đơn RNA có cực tính dương nằm bên trong phần nucleocapsid hình đa diện. Ngoài cùng là lớp màng bọc lipid chứa các protein E1 và E2 tạo thành phức hợp dimer.



Hình 1.2. Sơ đồ cấu tạo HCV

“Nguồn: Sharma SD, 2010” [83]

Mật độ của các hạt tử HCV trong huyết thanh rất thay đổi, từ 1,03 đến 1,72g/ml. Sở dĩ mật độ của HCV thay đổi như vậy là do các virion lưu hành trong máu dưới nhiều dạng khác nhau: hoặc là ở dạng tự do có tính lây nhiễm rất cao nhưng chỉ hiện diện ở mật độ tương đối thấp (khoảng 1,03); hoặc là ở dạng kết hợp với các đại phân tử, đặc biệt là các lipoprotein hoặc hiện diện trong các phức hợp miễn dịch nhưng mật độ lại cao (khoảng 1,10). Thực nghiệm trên khỉ Chimpanzee cho thấy tính lây nhiễm của các hạt tử HCV tự do cao hơn rõ rệt so với dạng kết hợp với các đại phân tử.

Qua phương pháp khuếch đại chuỗi di truyền (PCR) và phương pháp lai ghép tại chỗ người ta nhận thấy khuynh hướng của HCV không chỉ ở các tế bào gan mà các chuỗi HCV-RNA còn được tìm thấy trong các tế bào đơn

nhân ở máu ngoại vi. HCV có thể lây nhiễm ở các lymphô bào B và T cũng như ở các dòng đơn bào. Việc phát hiện này có nhiều ý nghĩa rất quan trọng:

- Việc nuôi cấy HCV có thể thực hiện được ở các dòng lymphô bào.
- Các tế bào đơn nhân có thể là nguồn “dự trữ” virút và đặc biệt có thể là nguyên nhân gây tái nhiễm HCV sau khi ghép gan.
- Sự lây nhiễm ở các tế bào đơn nhân có thể chọn lọc nên một vài “biến chủng” đặc biệt và tạo điều kiện cho bệnh tồn tại kéo dài [1].

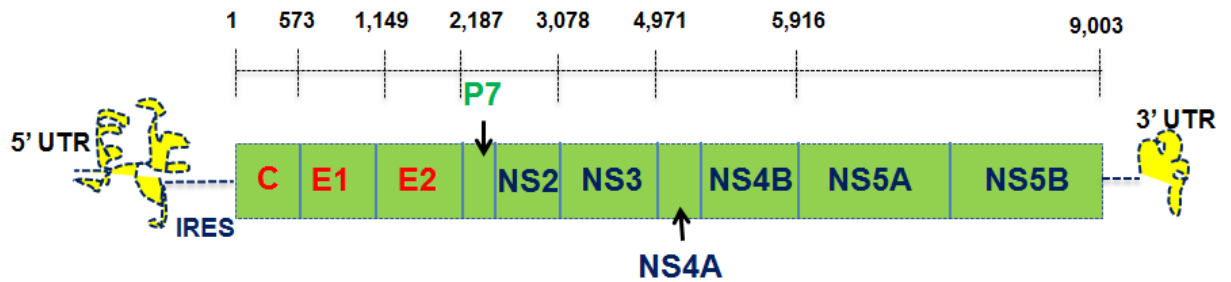
1.1.3. CẤU TRÚC CỦA BỘ GEN HCV

Bộ gen của HCV là một sợi đơn RNA có cực tính dương, gồm khoảng 9.600 nucleotide, được chia làm ba vùng:

* Đầu 5' không mã hóa dài khoảng 341 nucleotide, là vị trí gắn kết với ribosome, được gọi là IRES (internal ribosome entry site), để khởi phát quá trình giải mã cho việc tổng hợp chuỗi polyprotein tiền chất của virút.

* Đầu 3' không mã hóa chứa một đoạn 30-60 nucleotide tương đối thay đổi, nằm phía sau codon kết thúc. Tiếp theo là một đoạn poly U/UC, gồm 50-100 nucleotide rất thay đổi. Sau cùng là một chuỗi 98 base bảo tồn cao (vùng “3'-X”). Đây là đoạn bảo tồn nhất của bộ gen HCV. Thử nghiệm cho thấy tương tác giữa vùng 3'-X, vùng mã hóa NS5B và vùng poly U/UC là tuyệt đối cần thiết cho sự nhân bản của virút [95].

* Vùng được mã hóa nằm giữa hai đầu 5' và 3'. Vùng này chỉ có một khung đọc mở duy nhất (open reading frame) gồm 9.379-9.481 nucleotide, được giải mã để tổng hợp thành một polyprotein tiền chất của virút gồm khoảng 3.000 axit amin. Sau đó polyprotein này sẽ được các enzym protease của virút và các enzym peptidase tín hiệu của tế bào (host signal peptidase) phân cắt thành các protein cấu trúc và protein không cấu trúc.



Hình 1.3. Cấu trúc bộ gen HCV
 “Nguồn: Zahid Hussain, 2013” [97]

Các protein cấu trúc được tạo ra từ các gen C, E1 và E2

- Protein lõi (21 kDa) tạo nên phần nucleocapsid bao bọc bên ngoài chuỗi RNA của virút. Protein lõi có liên quan một số protein tế bào và các con đường có tác động trực tiếp đến vòng đời và sinh học của HCV, có vai trò trong việc tác động chống virus của Interferon thông qua việc tương tác với protein tế bào. Đột biến protein lõi làm thay đổi cấu trúc virút, gây ra kém đáp ứng với phác đồ Interferon-Ribavirin. Đặc biệt, hai dạng đột biến R70Q và L91M gây đáp ứng kém với phác đồ Interferon-Ribavirin [36].

- Protein E1 (37 kDa) và E2 (61 kDa) là hai glycoprotein của lớp vỏ, liên kết với nhau thành các phức hợp dimer. Một đoạn khoảng 30 axit amin ở gần đầu tận E2 được gọi là vùng siêu biến HVR-1 (hypervariable region). Đây là đoạn biến đổi di truyền nhiều nhất của protein vỏ và được giả định tồn tại như một vòng polypeptide trên bề mặt của virion. Bệnh nhân thường có kháng thể phản ứng với các peptid, đại diện cho trình tự HVR-1 của virút mà họ đang nhiễm. Việc xuất hiện kháng thể tạo ra những biến thể chọn lọc có chuỗi HVR-1 ít phản ứng hơn với kháng thể. Có bằng chứng cho thấy HVR-1 có một hoặc nhiều quyết định kháng nguyên trung hòa và đó là vị trí đột biến gây ra thoát lưới miễn dịch trong suốt giai đoạn nhiễm khuẩn cấp tính và mạn tính [91].

- Protein p7 (7 kDa): là một chuỗi polypeptid gồm 63 axit amin, có chức năng như một kênh ion, cần thiết cho việc sản xuất những virion lây nhiễm. Do nó bị ức chế bởi nhiều hợp chất khác nhau nên là một mục tiêu thích hợp cho việc phát triển các loại thuốc kháng HCV [81].

Các protein không cấu trúc

- Protein NS2 (23 kDa) là một cystein protease, cắt polyprotein tiền chất tại chỗ nối NS2/NS3 [94].

- Protein NS3 (68 kDa) có rất nhiều chức năng: men serine protease nằm ở đầu tận N (N-terminal) và men NTPase phụ thuộc RNA/helicase nằm ở đầu tận C (C-terminal). Enzym serine protease sẽ cắt chuỗi polyprotein tiền chất tại các vị trí NS3/NS4A, NS4A/NS4B, NS4B/NS5A, NS5A/NS5B. Enzym helicase tham gia vào quá trình nhân đôi của virút.

- Protein NS4A (6 kDa) là một đồng yếu tố cần thiết cho hoạt tính của men protease NS3.

Protein NS4B (26 kDa) là một protein màng, kỵ nước, có vai trò trong việc sao chép RNA cũng như quá trình lắp ráp và phóng thích virút [28].

- Protein NS5A (56-58 kDa) là một phosphoprotein, có chức năng trong việc sao chép RNA. NS5A chứa vùng quyết định cho tính nhạy cảm của HCV đối với Interferon-alpha (ISDR – Interferon sensitivity determining region). Vùng này làm mất tác dụng của Interferon qua trung gian việc ức chế men protein kinase R (PKR). Một khi PKR bị ức chế bởi NS5A thì khả năng kháng virút và chống tăng sinh virút của Interferon bị giảm đi. Mặt khác, NS5A có thể gây biểu hiện IL-8, làm ức chế biểu hiện gene kích hoạt sản xuất Interferon. Nếu có đột biến xảy ra ở vùng NS5A có thể tạo được đáp ứng tốt với Interferon.

NS5B (65 kDa) là men RNA polymerase phụ thuộc RNA, giúp tổng hợp chuỗi RNA từ khuôn mẫu RNA. Với hoạt tính enzym giống protein NS3,

NS5B RNA polymerase hiện nay là mục tiêu cho việc phát triển thuốc kháng virút bằng chất tương tự nucleoside, chất ức chế phân tử nhỏ không phải nucleoside và chất tương tự cyclosporin A [68].

1.1.4. SỰ NHÂN BẢN CỦA HCV

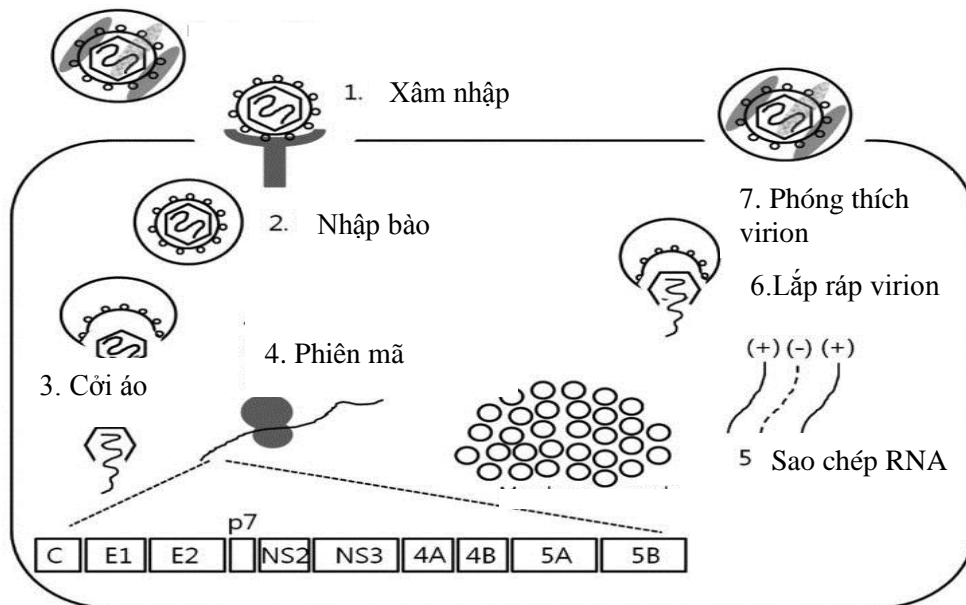
Một hệ thống nuôi cấy tế bào đã giúp xác định toàn bộ chu kỳ sống của virút từ lúc xâm nhập tế bào đến lúc phóng thích các virion lây nhiễm. Những nghiên cứu này kết hợp với những suy luận hợp lý từ những virút có nhánh RNA (+) khác đã đưa ra giả thuyết sau. Virút có khả năng xâm nhập tế bào bằng cách tương tác với vài phân tử thụ thể ở bề mặt tế bào đặc hiệu; những phân tử thụ thể đó gồm CD81, thụ thể LDL, DC-SIGN, thụ thể dọn rác người SR-B1 và CLDN-1 [46]

Sau khi bám dính, xâm nhập và đi vào trong không bào của tế bào, sự thay đổi pH tại chỗ làm thay đổi hình thể protein vỏ, làm tan chảy màng không bào. RNA của virút được phóng thích vào tế bào chất, tại đây nó hoạt động như mRNA, điều khiển dịch mã tạo thành chuỗi polyprotein của virút. Khả năng hồi phục virút lây nhiễm bằng cách cấy truyền trong gan tinh tinh bộ gen RNA tổng hợp cũng như khả năng nhân bản của RNA virút ở tế bào lây nhiễm cung cấp bằng chứng thuyết phục cho bước này trong chu kỳ nhân bản. Nhân bản virút xảy ra kết hợp với lưới nội bào tương thô bằng quá trình gắn kết ribosome và chuỗi polyprotein trải qua một chuỗi phân cắt ly giải protein.

Protein lõi vẫn ở trong tế bào chất sau khi được phân cắt bởi tín hiệu peptid peptidase từ chuỗi tín hiệu ở đầu C tận trong khi E1, E2 được bài tiết vào trong lòng lưới nội bào tương, vẫn gắn kết với màng và được glycosyl hóa. Một phức hợp replicase gồm NS3, NS4A, NS4B, NS5A và NS5B tạo thành cụm “màng lưới” của tế bào chất, bắt nguồn từ lưới nội bào tương. Phức hợp replicase này nhận diện cấu trúc và chuỗi đặc hiệu ở đầu tận 3' của bộ gen

RNA, điều khiển tổng hợp nhánh bổ sung âm của bộ gen. Sản phẩm RNA kép có khả năng được dùng làm khuôn tổng hợp nhiều bản sao RNA có cực tính dương. RNA được đóng gói thành những hạt virút mới, nhô vào trong lưới nội bào tương, làm phóng thích virút qua con đường bài tiết túi.

Kháng nguyên đặc hiệu HCV và cả hai sợi HCV-RNA có cực tính âm và dương đã được xác định trong tế bào gan cho thấy nhân bản xảy ra trong tế bào gan qua một sợi âm trung gian. Tuy nhiên cũng có dữ liệu cho thấy virút cũng có thể nhân bản ở lymphô bào ngoại vi hoặc lymphô bào ở tủy xương.



Hình 1.4. Chu trình nhân bản của HCV

“Nguồn: Ploss A, Dubuisson J, 2012” [76]

Những giả định chính trong quá trình nhân bản của HCV. Những bước đặc biệt bao gồm: virion bám dính và xâm nhập vào tế bào gan nhờ một phức hợp thụ thể chưa được mô tả đầy đủ, hòa màng do thay đổi pH và phóng thích RNA virút vào tế bào chất; sự phiên mã diễn ra tại vị trí gắn kết ribosome (IRES) và xử lý polyprotein của virút, tạo ra protein lõi, protein vỏ E1 và E2, viroporin giả định p7 và 6 loại protein không cấu trúc cần thiết cho sự nhân bản của RNA, hình thành phức hợp nhân bản, lắp ráp tạo thành màng lưới từ mạng lưới nội bào tương (qua trung gian NS4B) và phức hợp replicase ở đầu tận 3' của RNA virion; tổng hợp một nhánh trung gian RNA (-); tổng hợp nhiều nhánh RNA (+); lắp ráp hạt virút ở mạng lưới nội bào tương, bộ Golgi và phóng thích virút khỏi tế bào.

1.1.5. SỰ KHÁC BIỆT BÊN TRONG BỘ GEN VÀ KHÁI NIỆM “QUASI-SPECIES”

Ở cùng một bệnh nhân bị nhiễm một loại kiểu gen nào đó, sau một thời gian diễn tiến bệnh, người ta nhận thấy trong huyết thanh của bệnh nhân có sự hiện diện của nhiều “quần thể” virút với số lượng khác nhau. Các “quần thể” này gần giống như “quần thể” ban đầu nhưng chỉ khác nhau < 5% về trình tự nucleotide và được gọi là hiện tượng “quasi-species”.

Sở dĩ có sự khác biệt trong bộ gen như thế, trước tiên là do sự sai sót của men RNA polymerase. Thêm vào đó, còn do sự hiện diện của “vùng siêu biến” HVR1 (gồm 27 axit amin) nằm ở đầu tận -N của protein E2. Người ta ghi nhận sự đột biến của bộ gen xảy ra > 50% tại HVR1 này. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng trong hiện tượng “quasi-species”, sự đột biến nói trên không dẫn đến làm thay đổi kiểu gen của bệnh nhân trong quá trình diễn tiến của bệnh.

Vùng siêu biến cũng là vị trí của epitop trung hòa virút. Khi nhiễm HCV trong giai đoạn cấp, HVR1 bị đột biến rất nhanh dưới áp lực miễn dịch của ký chủ. Do đó, chính đáp ứng miễn dịch dịch thể đã kích thích sự biến đổi của HVR1. Điều này đã được chứng minh qua sự việc ở những người không có gammaglobulin huyết (agammaglobulinemia) tức là cơ thể không có khả năng sản xuất kháng thể mà bị nhiễm HCV thì HVR1 không bị biến đổi.

Khi tình trạng nhiễm virút trở nên mạn tính, các “quần thể” này sẽ đạt đến một trạng thái cân bằng, có quần thể chiếm “đa số”, có quần thể chiếm “thiểu số”. Các quần thể nói trên có tốc độ nhân bản khác nhau và cũng có độ nhạy cảm khác nhau đối với Interferon. Điều này giải thích được sự đáp ứng khác nhau đối với Interferon giữa các bệnh nhân khác nhau cũng như từng giai đoạn diễn tiến bệnh khác nhau trong cùng một bệnh nhân. Hiện tượng “quasi-species” càng trở nên phức tạp ở những bệnh nhân mà diễn tiến bệnh đã lâu như khi đã bị xơ gan hơn là những bệnh nhân chỉ mới bị viêm gan mạn hoạt động [25].

1.1.6. KIỂU GEN HCV

Bên cạnh tính không đồng nhất đầy ấn tượng, tồn tại trong trình tự chuỗi HCV ở một người bị nhiễm khuẩn (hiện tượng “quasi-species”) còn có tính không đồng nhất di truyền và khác biệt đáng kể ở trình tự chuỗi HCV của những bệnh nhân khác nhau (khác biệt về chủng và kiểu gen). Đánh giá phát sinh loài của những trình tự chuỗi HCV lấy từ nhiều khu vực địa lý cho thấy có ít nhất sáu kiểu gen chính và xác định tạm thời kiểu gen thứ bảy ở một mẫu có nguồn gốc từ Trung Phi. Những kiểu gen này thậm chí còn đa dạng hơn so với những kiểu gen gây ra đại dịch HIV trên toàn thế giới, một phần do lịch sử dịch tễ của HCV kéo dài hơn [73].

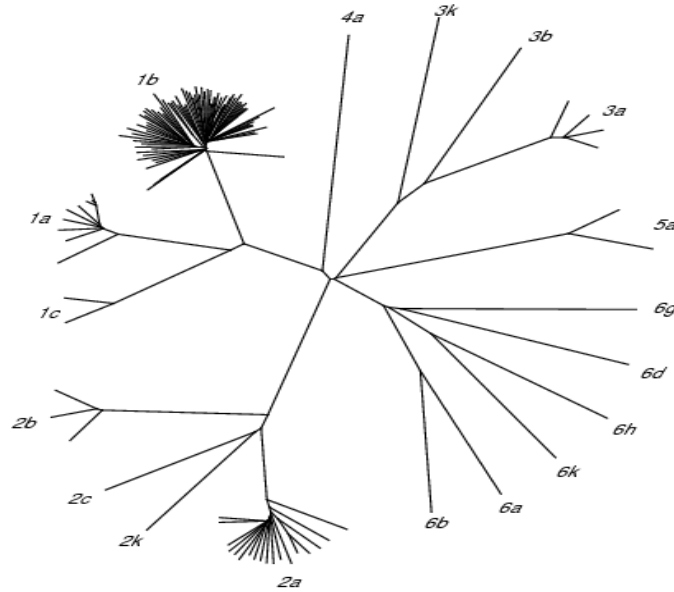
Tùy thuộc vào vùng gen được đánh giá, chuỗi HCV được xếp vào các kiểu gen khác nhau có thể có < 50% trình tự nucleotide giống nhau. Tuy nhiên còn biết ít về mức độ khác biệt kiểu gen huyết thanh ở các chủng HCV. Mặc dù đã tiến hành nhiều nghiên cứu, có rất ít bằng chứng cho thấy kiểu gen HCV gây ra khác biệt về mức độ lây truyền, nhân bản hoặc tỷ lệ tiến triển đến bệnh gan. Tuy nhiên, kiểu gen gây ra sự khác biệt trong đáp ứng với điều trị bằng Interferon và thuốc ức chế phân tử nhỏ.

Trong một kiểu gen HCV, các chủng có thể được tiếp tục xếp vào phân tít (subtype), giống nhau 75-85% trình tự nucleotide ở vùng lõi, E1 và NS5B của bộ gen. Ngược lại, biến thể quasi-species ở một bệnh nhân giống nhau 91-99% ở những vùng này.

Sự phân bố địa lý của kiểu gen HCV chưa được xác định đầy đủ nhưng có vài khuynh hướng rõ ràng. Ở Mỹ, 60-70% các chủng phân lập là kiểu gen 1a hoặc 1b. Ngược lại, nhiễm kiểu gen 4 là phổ biến ở Châu Phi và Trung Đông. Chẳng hạn, hơn 90% trình tự chuỗi virút trong một nghiên cứu ở Ai Cập là kiểu gen 4.

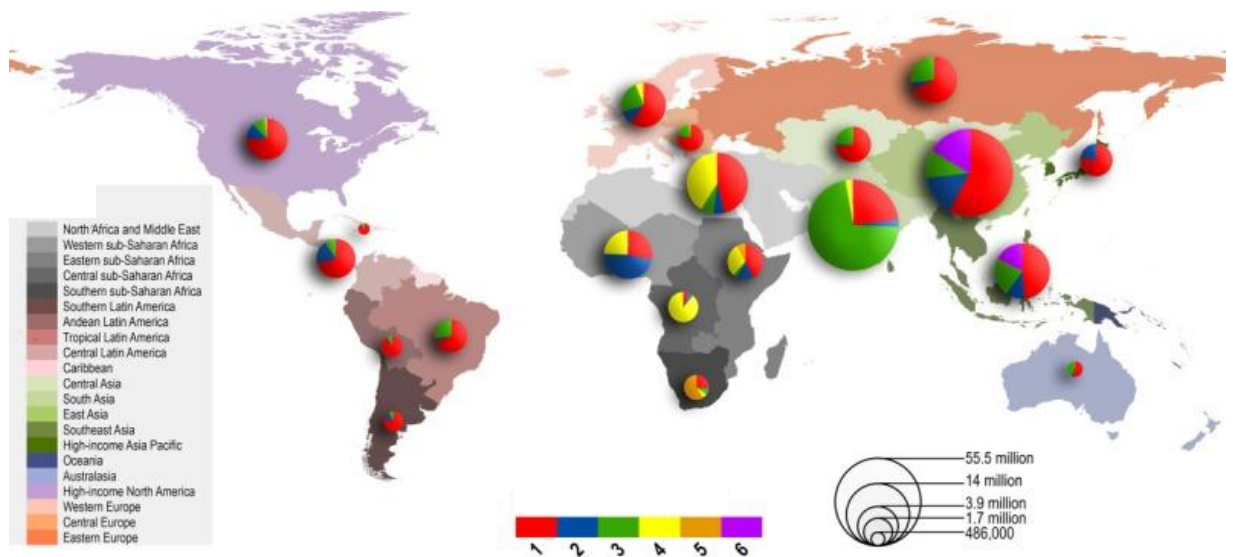
Kiểu gen 5 và 6 được báo cáo ở Nam Phi và Đông Nam Á.

Kiểu gen 3 xuất hiện ở Châu Á nhưng có liên quan đến những vùng địa lý khác do sử dụng ma túy [72].



Hình 1.5. Kiểu gen HCV

“Nguồn: Los Alamos National Laboratory” [50]



Hình 1.6. Phân bố kiểu gen HCV trên thế giới

“Nguồn: Hanafiah et al, 2013” [69]

Các nghiên cứu về kiểu gen HCV ở Việt Nam

Các nghiên cứu trước đây khi thực hiện định kiểu gen HCV trên vùng 5' không mã hóa đều có kết quả kiểu gen HCV ở Việt Nam chủ yếu là kiểu gen 1 [6], [15], [21]. Theo Hồ Tấn Đạt và cộng sự thì kiểu gen chủ yếu ở người Việt Nam là kiểu gen 1 chiếm 60,3% (kiểu gen 1: 6,6%; 1a: 5,9%; 1a/1b: 0,4% và 1b: 47,4%) với kỹ thuật LiPA, còn kiểu gen 6a là 23,2%. Còn khi giải trình tự trên vùng 5' không mã hóa với hệ thống TruGene, tác giả Hồ Tấn Đạt và cộng sự thấy kiểu gen 1 chiếm 59,98% (kiểu gen 1: 9,39%; 1a: 12,96%, 1b: 37,63%), kiểu gen 6 chiếm 24,15% [48].

Còn theo Nguyễn Nghiêm Luật và cộng sự khi giải trình tự vùng 5' không mã hóa trên hệ thống Beckman Coulter thì kiểu gen 1 chiếm 69,44% (kiểu gen 1a: 25%, 1b: 44,44%) [8].

Tuy nhiên những nghiên cứu gần đây khi thực hiện việc xác định kiểu gen HCV dựa trên vùng lõi (core) hay vùng NS5B cho kết quả hoàn toàn ngược lại: kiểu gen 6 là chủ yếu ở người Việt Nam. Theo Phạm Hoàng Phiệt và cộng sự khi thực hiện giải trình tự vùng NS5B trên hệ thống máy 3130 XL Genetic Analyzer (ABI) thì kiểu gen 1 chiếm 34,29% và kiểu gen 6 là 65,71%; đặc biệt tác giả đã thực hiện đồng thời việc định kiểu gen bằng hai kỹ thuật Real-time PCR trên đoạn 5' không mã hóa và giải trình tự trên đoạn NS5B: Kết quả trong 60 trường hợp định kiểu gen trên vùng 5' không mã hóa là kiểu gen 1 thì có 36 trường hợp là kiểu gen 6 khi giải trình tự trên vùng NS5B (chiếm 60%); ngoài ra khi thực hiện đồng thời việc xác định kiểu gen trên hai vùng 5' không mã hóa và vùng NS5B thì kiểu gen 6 cho kết quả giống nhau đều là kiểu gen 6 [11]. Các công trình nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh các xét nghiệm xác định kiểu gen HCV dựa trên sự khác biệt trình tự vùng 5' không mã hóa là không đủ khả năng để phân biệt được nhiều phân tít của kiểu gen 6 với kiểu gen 1, vì vậy sẽ có khả năng nhiều trường hợp được

xác định kiểu gen 1 nhưng thật ra là kiểu gen 6. Sự nhầm lẫn này có thể lên đến 40-60%.

Phạm Hùng Vân và cộng sự xác định kiểu gen HCV bằng giải trình tự trên đoạn NS5B bằng hệ thống ABI PRISM, tổng cộng có 842 trường hợp với kết quả kiểu gen 6 chiếm 54,4% và kiểu gen 1 chiếm 30,4% [90].

Cao Minh Nga và cộng sự xác định kiểu gen của 480 bệnh nhân bằng phương pháp Real-time RT-PCR, dựa trên trình tự vùng core HCV. Tỷ lệ các kiểu gen 6, 1 và 2 lần lượt là 52,7%; 26,9% và 19,8% [9].

Như vậy khi xác định kiểu gen trên đoạn core hay NS5B thì kiểu gen 6 là chủ yếu ở người Việt Nam.

1.1.7. DỊCH TỄ HỌC NHIỄM HCV

1.1.7.1. TÌNH HÌNH NHIỄM HCV TRÊN THẾ GIỚI

Tổ chức Y tế thế giới dự đoán năm 2015 có 71 triệu người bị nhiễm HCV mạn tính và hàng năm có khoảng 399.000 người chết vì căn bệnh này [51]. Phần lớn bệnh nhân không biết đang bị nhiễm virút và nhiều bệnh nhân dù đã được chẩn đoán vẫn không tiếp cận được với chế độ điều trị [59], [62]. Đa số bệnh nhân được điều trị có kết quả tốt và tỷ lệ thành công tương tự ở các quốc gia phát triển và đang phát triển [38]. Dự đoán 1/3 bệnh nhân nhiễm HCV mạn tính sẽ tiến triển đến xơ gan hoặc ung thư gan [63].

Bảng 1.1. Phân bố các vùng dịch bệnh nhiễm HCV trên thế giới [45]

Khu vực	Tỷ lệ Anti-HCV(+)	Tỷ lệ HCV-RNA(+)	Tỷ lệ có HCV	Dân số 2013 (triệu người)	Anti-HCV(+) (triệu người)	HCV-RNA(+) (triệu người)
Asia Pacific, High Income	1.1% (0.5%-1.7%)	0.8% (0.4%-1.2%)	74%	182	2.0 (0.9-3.0)	1.5 (0.6-2.2)
Asia, Central	5.4% (3.5%-6.8%)	2.3% (1.5%-3.0%)	43%	84	4.5 (2.9-5.7)	1.9 (1.3-2.5)
Asia, East	1.2% (0.4%-1.8%)	0.7% (0.3%-1.1%)	60%	1434	16.6 (6.3-25.3)	10.0 (3.9-15.1)
Asia, South	1.1% (0.7%-1.5%)	0.9% (0.5%-1.2%)	81%	1650	18.8 (11.3-24.5)	15.2 (8.9-19.8)
Asia, Southeast	1.0% (0.8%-1.8%)	0.7% (0.5%-1.1%)	63%	635	6.6 (5.3-11.3)	4.2 (3.4-7.2)
Australasia	1.4% (1.0%-1.5%)	1.0% (0.8%-1.1%)	75%	28	0.4 (0.3-0.4)	0.3 (0.2-0.3)
Caribbean	0.8% (0.2%-1.3%)	0.6% (0.1%-0.9%)	70%	39	0.3 (0.1-0.5)	0.2 (0.0-0.4)
Europe, Central	1.3% (1.1%-1.6%)	1.0% (0.9%-1.2%)	80%	119	1.5 (1.3-1.9)	1.2 (1.1-1.5)
Europe, Eastern	3.3% (1.6%-4.5%)	2.3% (1.1%-3.0%)	69%	207	6.8 (3.4-9.3)	4.7 (2.4-6.3)
Europe, Western	0.9% (0.7%-1.5%)	0.6% (0.5%-1.0%)	70%	425	3.7 (3.0-6.3)	2.6 (2.1-4.4)
Latin America, Andean	0.9% (0.4%-1.3%)	0.6% (0.3%-0.9%)	70%	57	0.5 (0.2-0.7)	0.4 (0.2-0.5)
Latin America, Central	1.0% (0.8%-1.4%)	0.8% (0.6%-1.1%)	75%	246	2.6 (1.9-3.5)	1.9 (1.4-2.6)
Latin America, Southern	1.2% (0.5%-2.1%)	0.9% (0.4%-1.6%)	79%	62	0.8 (0.3-1.3)	0.6 (0.2-1.0)
Latin America, Tropical	1.2% (0.9%-1.2%)	1.0% (0.7%-1.0%)	80%	207	2.5 (1.9-2.6)	2.0 (1.5-2.1)
North Africa/Middle East	3.1% (2.5%-3.9%)	2.1% (1.7%-2.6%)	66%	469	14.6 (11.9-18.2)	9.7 (7.8-12.1)
North America, High Income	1.0% (1.0%-1.9%)	0.8% (0.7%-1.4%)	76%	355	3.7 (3.4-6.7)	2.8 (2.6-5.0)
Oceania	0.1% (0.1%-0.6%)	0.1% (0.1%-0.4%)	69%	10	0.0 (0.0-0.1)	0.0 (0.0-0.0)
Sub-Saharan Africa, Central	4.2% (2.4%-9.2%)	2.6% (1.5%-5.5%)	61%	100	4.3 (2.4-9.2)	2.6 (1.5-5.5)
Sub-Saharan Africa, East	1.0% (0.6%-3.1%)	0.6% (0.4%-2.0%)	62%	385	3.9 (2.4-12.1)	2.4 (1.6-7.9)
Sub-Saharan Africa, Southern	1.3% (0.8%-2.5%)	0.9% (0.6%-1.7%)	69%	75	1.0 (0.6-1.9)	0.7 (0.4-1.3)
Sub-Saharan Africa, West	5.3% (2.9%-9.1%)	4.1% (2.3%-6.7%)	77%	367	19.3 (10.5-33.3)	14.9 (8.5-24.6)
Khu vực khác	1.9% (1.0%-3.4%)	1.3% (0.7%-2.4%)	69%	27	0.5 (0.3-0.9)	0.4 (0.2-0.7)
Tổng cộng	1.6% (1.3%-2.1%)	1.1% (0.9%-1.4%)	70%	7162	114.9 (91.9-148.7)	80.2 (64.4-102.9)

ĐƯỜNG LÂY TRUYỀN HCV**Bảng 1.2.** Dân số nguy cơ nhiễm HCV [93]

Các nhóm dân số có nguy cơ nhiễm HCV	Nguy cơ
Người tiêm chích ma túy	Nguy cơ nhiễm HCV cao nhất: 67%
Truyền sản phẩm máu bị nhiễm khuẩn, thủ thuật xâm lấn không kiểm soát tốt nhiễm khuẩn	Nguy cơ lây nhiễm HCV tùy thuộc vào tần suất thực hiện thủ thuật và mức độ kiểm soát nhiễm khuẩn (năm 2015, tỷ lệ nhiễm HCV mạn tính ở Ai Cập là 4,4%)
Trẻ em sinh từ mẹ bị nhiễm HCV	Nguy cơ lây nhiễm HCV là 4-8% Nếu mẹ bị đồng nhiễm HIV, nguy cơ lây nhiễm HCV là 10,8-25%
Lây từ bạn tình bị nhiễm HCV	Nguy cơ lây nhiễm HCV rất thấp
Lây từ bạn tình bị đồng nhiễm HIV	Nguy cơ lây nhiễm HCV cao nếu không sử dụng biện pháp phòng ngừa
Người hít cocain	Nguy cơ lây nhiễm HCV cao nếu dùng chung dụng cụ hít cocain
Xăm mình	Người xăm mình có nguy cơ nhiễm HCV cao hơn người bình thường (OR = 2,24, Khoảng tin cậy 95%: 2,01-2,50)

*** Lây truyền do chăm sóc y tế**

Nhiễm HCV liên quan chặt chẽ với bất bình đẳng y tế. Ở các nước có thu nhập thấp và trung bình, nhiễm HCV thường do thực hiện tiêm chích và các thủ thuật y tế không an toàn như chạy thận nhân tạo, truyền máu chưa được sàng lọc. Hàng năm trên toàn thế giới thực hiện khoảng 8-12 tỉ lần tiêm truyền và 50% trường hợp được xem là không an toàn (chủ yếu ở vùng cận Sahara-Châu Phi và Châu Á). Ở các quốc gia có thu nhập thấp và trung bình

nhiễm HCV thường liên quan với việc tiêm truyền không an toàn và truyền máu chưa được sàng lọc. Theo báo cáo của Tổ chức Y tế thế giới về an toàn truyền máu năm 2016, có 11 quốc gia không thể sàng lọc HCV cho tất cả các trường hợp hiến máu. Ở Ai Cập do việc tiêm truyền không an toàn nên vài vùng (lưu hành bệnh sán máng) có tỷ lệ nhiễm HCV lên đến 50%. Ở các nước có thu nhập cao, người được truyền máu trước khi áp dụng xét nghiệm tầm soát HCV cũng có nguy cơ cao. Để truyền máu an toàn cần thực hiện các chiến lược quan trọng nhằm đảm bảo có được một nguồn cung cấp máu an toàn và đầy đủ, bao gồm cả việc thực hiện hiến máu tình nguyện 100% và xét nghiệm toàn bộ các bịch máu [40], [44].

*** Người tiêm chích ma túy**

Ở các nước có thu nhập trung bình và cao, phần lớn các trường hợp nhiễm HCV xảy ra ở những người sử dụng ống chích không vô trùng và chát ma túy bị nhiễm bẩn. Trong số 16 triệu người ở 148 quốc gia tiêm chích ma túy, có 10 triệu người đã nhiễm HCV [74]. Những người này có nguy cơ tử vong cao, phản ánh vai trò của việc tiêm chích ma túy, tình trạng kinh tế xã hội thấp, khó tiếp cận chăm sóc y tế và các yếu tố môi trường [55].

*** Lây truyền mẹ-con**

Nguy cơ lây truyền từ mẹ sang con khoảng 4-8% ở trẻ có mẹ nhiễm HCV và 10,8-25% nếu mẹ đồng nhiễm HCV/HIV.

*** Lây truyền qua đường tình dục**

Lây truyền qua đường tình dục của HCV xảy ra không thường xuyên ở quan hệ khác giới. Lây nhiễm phổ biến hơn ở những người nhiễm HIV, đặc biệt khi quan hệ đồng tính nam. Trong vài đợt dịch nhiễm HCV gần đây trong nhóm đồng tính nam ở Châu Âu, Úc và Mỹ, lây truyền có liên quan đến quan hệ tình dục cũng như do hít ma túy. Quan hệ khác giới với bạn tình đồng nhiễm HIV/HCV cũng có khả năng bị nhiễm HCV; lây qua quan hệ tình dục, tiếp xúc với máu hoặc dùng chung ống hít cocaine [29], [37], [89].

* Những đường lây truyền khác

Các đường lây truyền HCV khác bao gồm sử dụng thuốc nhỏ mũi và các phương thức lây qua đường máu khác như lây nhiễm từ nhân viên y tế, các thủ thuật thẩm mỹ (như xăm mình, xuyên da để mang các vật trang trí), rạch và cắt bao quy đầu [54].

ĐỒNG NHIỄM

* Đồng nhiễm HIV/HCV

HIV và HCV có các đường lây truyền chung và người ta ước tính rằng có 25% người nhiễm HIV đồng nhiễm HCV [84].

Với việc điều trị bằng thuốc kháng virút làm giảm nguy cơ nhiễm trùng cơ hội, các bệnh gan do HCV đã bắt đầu vượt qua căn bệnh AIDS, được xác định là một nguyên nhân hàng đầu gây tử vong ở một số nước có thu nhập cao.

* Đồng nhiễm HBV/HCV

Đồng nhiễm HBV và HCV thường xuất hiện trong các quốc gia lưu hành HBV ở Châu Á, cận Sahara Châu Phi và Nam Mỹ. Có đến 25% người nhiễm HCV có thể bị nhiễm thêm HBV ở một vài khu vực [77].

* Đồng nhiễm lao và HCV

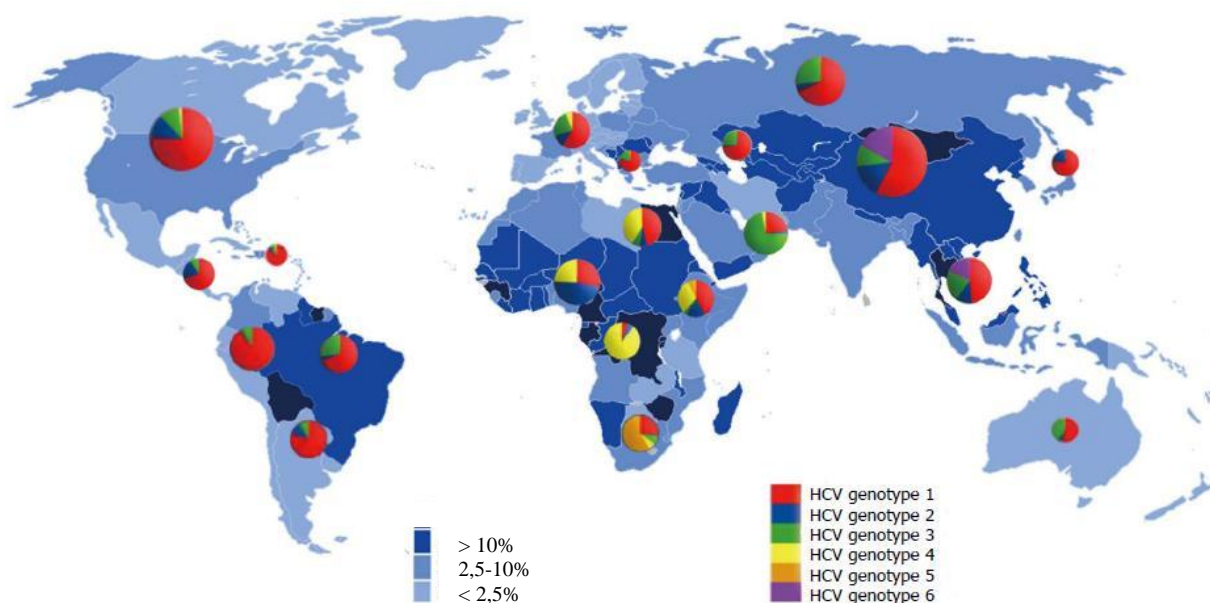
Nhóm có nguy cơ lây nhiễm HCV cũng có nguy cơ nhiễm bệnh lao. Bệnh lao mắc phải do AIDS phổ biến nhất và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu sau khi nhiễm HIV. Người tiêm chích ma túy có nhiều nguy cơ mắc bệnh lao bất kể tình trạng nhiễm HIV. Trong số những người tiêm chích ma túy bị mắc bệnh lao, 2/3 sẽ có Anti-HCV (+). Những người nhiễm HIV và tiêm chích ma túy có nguy cơ gấp 2-6 lần bị mắc bệnh lao so với người không dùng ma túy. Những tù nhân có nguy cơ cao nhiễm HCV cũng có nhiều khả năng đồng nhiễm bệnh lao, bị giam giữ có nguy cơ gấp 23 lần bị bệnh lao so với cộng đồng bình thường [42]. Đối với những người đang được cân nhắc

điều trị viêm gan C phải được tầm soát bệnh lao hoạt động. Những bệnh nhân này cần phải được đánh giá lâm sàng chính xác, chế độ điều trị phải cân nhắc tác dụng phụ và tương tác các loại thuốc được sử dụng để điều trị HIV, bệnh lao và HCV.

1.1.7.2. TÌNH HÌNH NHIỄM HCV TẠI VIỆT NAM

Tỷ lệ nhiễm HCV trong cộng đồng thay đổi nhiều theo các nghiên cứu trong nước, dao động trong khoảng 0,08-3,9% [7], [13], [14], [19].

Theo kết quả nghiên cứu của Mohd Hanafiah K và cộng sự (2013), tỷ lệ nhiễm HCV của vùng Đông Nam Á ở mức độ vừa (1,5-3,5%) [69].



Hình 1.7. Tỷ lệ nhiễm HCV trên thế giới

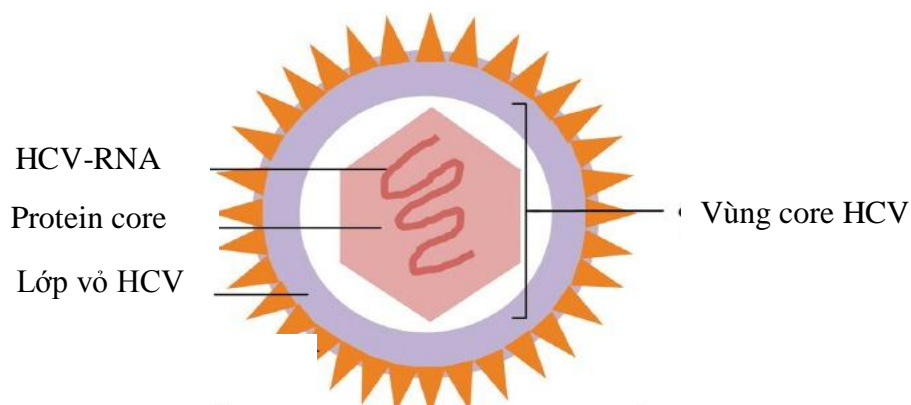
“Nguồn: Daw MA et al, 2016” [31]

Tuy nhiên, theo Tổ chức Y tế thế giới có thể 97% những người tiêm chích ma túy ở Việt Nam bị nhiễm HCV [52].

Năm 2012, Nguyễn Tiến Hòa công bố đề tài nghiên cứu “Tình trạng nhiễm HIV, HBV, HCV và yếu tố liên quan ở một số nhóm nguy cơ cao tại Hà Nội, 2008-2010”. Nhóm người nghiện chích ma túy (NCMT) có tỷ lệ nhiễm HCV cao nhất, 57,3-69,3% so với các nhóm còn lại là phụ nữ bán dâm (PNBD), bệnh nhân chạy thận nhân tạo (BNCTNT), bệnh nhân truyền máu nhiều lần (BNTMNL).

ĐTNC	Năm 2008			Năm 2009			Năm 2010		
	n	(+)	%	n	(+)	%	N	(+)	%
NCMT	200	120	60,0	199	114	57,3	199	138	69,3
PNBD	199	49	24,6	200	54	27,0	200	43	21,5
BNCTNT	100	45	45,0	150	43	28,7	150	47	31,3
BNTMNL	100	13	13,0	150	8	3,3	150	5	3,3

1.2. ĐỘT BIẾN VÙNG CORE HCV



Hình 1.8. Vùng core HCV

“Nguồn: Du L, Tang H, 2016” [33]

Năm 2010, Kobayashi và cộng sự tiến hành khảo sát 1.097 bệnh nhân viêm gan virus C mạn tính kiểu gen 1b. Những bệnh nhân này chưa được điều trị kháng virus. Sự thay thế axit amin arginine ở vị trí 70 bằng glutamine hoặc

axít amin leucin ở vị trí 91 bằng methionin ở vùng core HCV có liên hệ với tình trạng kém đáp ứng khi điều trị bằng Peginterferon-Ribavirin. Dạng HCV hoang dã Arg70 và Leu91 giảm theo tuổi trong khi dạng đột biến Gln70 và Met91 tăng ($p < 0.0001$). Trong số 1.097 bệnh nhân có 464 bệnh nhân (42,3%) bị nhiễm dạng virút Gln70 và 633 bệnh nhân nhiễm virút dạng Arg70. Bệnh nhân mang virút dạng Gln70 có bệnh lý gan nặng hơn ($p < 0,001$), tăng men gamma-glutamyl transpeptidase ($p < 0.001$) và giảm tiểu cầu ($p = 0,008$). Đồng thời, bệnh nhân nhóm Gln70 dễ có biến chứng ung thư gan hơn [56].

Năm 2011, Hayashi và cộng sự công bố đề tài “Đột biến vùng core và vùng NS5 của HCV kiểu gen 1b và mối liên quan với đáp ứng điều trị bằng Peginterferon alpha 2b/Ribavirin” [47].

Theo các tác giả, đột biến hai vùng này của virút viêm gan C có ảnh hưởng đến đáp ứng điều trị bằng Interferon. Đột biến vùng NS5A của HCV có liên quan với đáp ứng điều trị bằng Interferon, và vùng này được gọi là vùng xác định tính nhạy cảm với Interferon ISDR (IFN sensitivity-determining region). Đột biến vùng core cũng đã được báo cáo có khả năng dự đoán đáp ứng với Interferon. Mục tiêu của nghiên cứu này là kiểm tra liệu việc thay thế axít amin ở vùng core và ISDR ở những bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1b có ảnh hưởng đến đáp ứng với Interferon hay không. Chọn ngẫu nhiên 213 bệnh nhân đã hoàn thành thời gian điều trị Interferon. Tất cả những bệnh nhân này được tiêm Peginterferon alpha 2a một lần trong tuần, kết hợp với uống Ribavirin hàng ngày trong thời gian 48 tuần.

Trong số 213 bệnh nhân có 117 bệnh nhân (54,9%) có đáp ứng virút sớm EVR (early virologic response), HCV (-) ở tuần thứ 12. Phân tích đa biến cho thấy những yếu tố liên quan với EVR là không có đột biến Gln70, Leu91 ở vùng core và có đột biến ISDR. 102 bệnh nhân (47,9%) có đáp ứng virút bền vững (SVR). Đáp ứng virút bền vững thường xảy ra ở bệnh nhân không

có đột biến Gln70 hơn là ở bệnh nhân có đột biến này (55,4% so với 21,3%; $p < 0,0001$). SVR ở bệnh nhân có đột biến ISDR cũng cao hơn so với bệnh nhân có dạng ISDR bình thường (62,5% so với 43,6%; $p = 0,0227$). Trong số 34 bệnh nhân không có đột biến Gln70 và có đột biến ISDR, có 26 bệnh nhân (76,5%) đạt SVR. Phân tích đa biến cho thấy yếu tố liên quan đến SVR là không có Gln70 và có đột biến ISDR. Như vậy, việc thay thế axit amin ở vùng core và ISDR có ích cho việc dự đoán đáp ứng với Interferon ở bệnh nhân bị nhiễm HCV kiểu gen 1b.

Năm 2011, Akuta và cộng sự công bố kết quả nghiên cứu “Đột biến axit amin vùng core HCV dự đoán biến chứng ung thư gan sau khi đã loại bỏ HCV-RNA bằng thuốc kháng virút”. Theo tác giả, đột biến axit amin 70 hoặc 90 ở HCV kiểu gen 1b là những chỉ dấu sinh học quan trọng đối với ung thư gan. Có 1.273 bệnh nhân tham gia nghiên cứu. Đây là những bệnh nhân viêm gan C mạn tính đã đạt đáp ứng virút bền vững, HCV-RNA (-) sau khi chấm dứt điều trị 24 tuần. Những bệnh nhân này được theo dõi đánh giá ảnh hưởng của đột biến vùng core đến biến chứng ung thư biểu mô tế bào gan. 26 bệnh nhân phát triển ung thư biểu mô tế bào gan trong quá trình theo dõi. Tỷ lệ tích lũy của những ca ung thư mới là 3,2%, 4,8%, 8,6% tương ứng với sau 5, 10 và 15 năm. Những bệnh nhân có Gln70 (His70) chiếm tỷ lệ cao hơn bệnh nhân có Arg70 ($p = 0,007$). Phân tích đa biến cho thấy bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1 có đột biến Gln70 (His70) ($p < 0,001$), xơ gan tiến triển ($p = 0,002$) và tuổi cao ($p = 0,066$) là những yếu tố quyết định biến chứng ung thư biểu mô tế bào gan. Như vậy, đột biến ở vùng core HCV kiểu gen 1b lúc bắt đầu điều trị là chỉ dấu sinh học quan trọng cho việc theo dõi biến chứng ung thư biểu mô tế bào gan sau khi loại bỏ virút viêm gan C [23].

Năm 2010, Akuta N công bố đề tài “Đột biến axit amin vùng core HCV và biến thể di truyền gần gen IL28B dự đoán đáp ứng virút với phác đồ phối hợp Telaprevir, Peginterferon và Ribavirin”. 72 bệnh nhân người Nhật viêm

gan C mạn tính do HCV kiểu gen 1b được điều trị ba loại thuốc Telaprevir/Peginterferon/Ribavirin. Hiệu quả cao ở người mang SNP rs8099917 IL28B TT (84%), bất kể có đột biến vùng core aa 70. Những bệnh nhân không có kiểu gen TT, không có đột biến aa 70, đạt SVR 50%. Những bệnh nhân không có kiểu gen TT, có đột biến R70Q/H đạt SVR 12%. Như vậy, SNP rs8099917 IL28B và đột biến vùng core HCV là chỉ dấu sinh học cho đáp ứng virút bền vững với phác đồ phối hợp Telaprevir/Peginterferon/Ribavirin ở bệnh nhân người Nhật nhiễm HCV kiểu gen 1b [22].

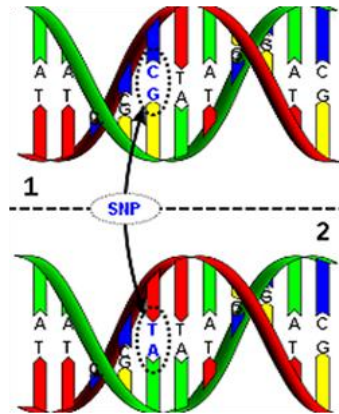
Tóm lại, đến nay các dạng đột biến vùng core HCV có liên quan đến kém đáp ứng điều trị với phác đồ Interferon-Ribavirin và biến chứng ung thư biểu mô tế bào gan gồm: R70Q, R70H và L91M.

1.3. MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CƠ BẢN CỦA SNP IL28B

1.3.1. Phát hiện SNP IL28B

Bộ gen của loài người có những biến thể di truyền khác nhau và điểm đó làm nên sự khác nhau giữa người này với người kia. Phần lớn trong số những biến thể đó là hàng triệu các điểm đa hình tại những vị trí nucleotide nhất định đã làm thay đổi mã di truyền. Những điểm khác biệt đó được gọi là những điểm đa hình đơn nucleotide (single nucleotide polymorphism). Nghĩa là ở một vị trí nào đó trong genome người này là A nhưng người khác là T. SNPs hiện đang được Dự án quốc tế HapMap tiến hành thống kê một cách hệ thống [87].

Về mặt tiến hóa, những điểm khác biệt này được giả thuyết là các dạng đột biến trung tính tạo nên sự đa dạng về mặt di truyền giữa các cá thể loài người. Tuy nhiên, một số điểm đa hình SNP có thể liên quan đến khả năng miễn cảm với bệnh.



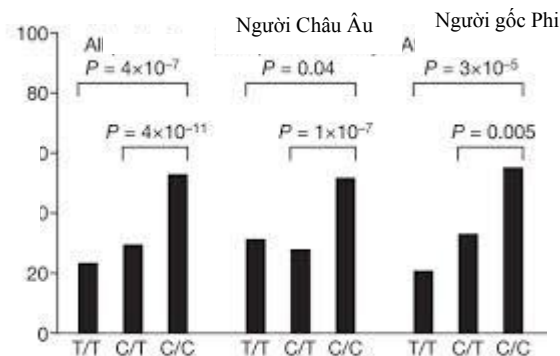
Hình 1.9. Kiểu gen CT

“Nguồn: David W. Sharp, 2011” [49]

Một đa hình đơn, SNP rs12979860 nằm phía trước gen IL28B (mã hóa cho Interferon- λ 3) 3 Kb, trên nhiễm sắc thể 19 có liên quan chặt chẽ với đào thải virút tự phát hay do điều trị [41], [67], [98].

Nhằm xác định tác động của biến thể rs12979860 lên kết quả của nhiễm HCV trong diễn tiến tự nhiên, David L. Thomas và cộng sự định kiểu gen của biến thể này ở hai nhóm bệnh nhân. Nhóm thứ nhất gồm 388 người đã đào thải HCV tự phát. Nhóm thứ hai gồm 620 người viêm gan virút C mạn tính. Kết quả cho thấy kiểu gen CC có ảnh hưởng mạnh mẽ đến việc đào thải HCV ở cả hai nhóm bệnh nhân có nguồn gốc Châu Âu và Châu Phi. Ngoài ra, tỷ lệ kiểu gen CC ở vùng Đông Nam Á là 93,6-97,9% [30].

Tỷ lệ thanh thải HCV



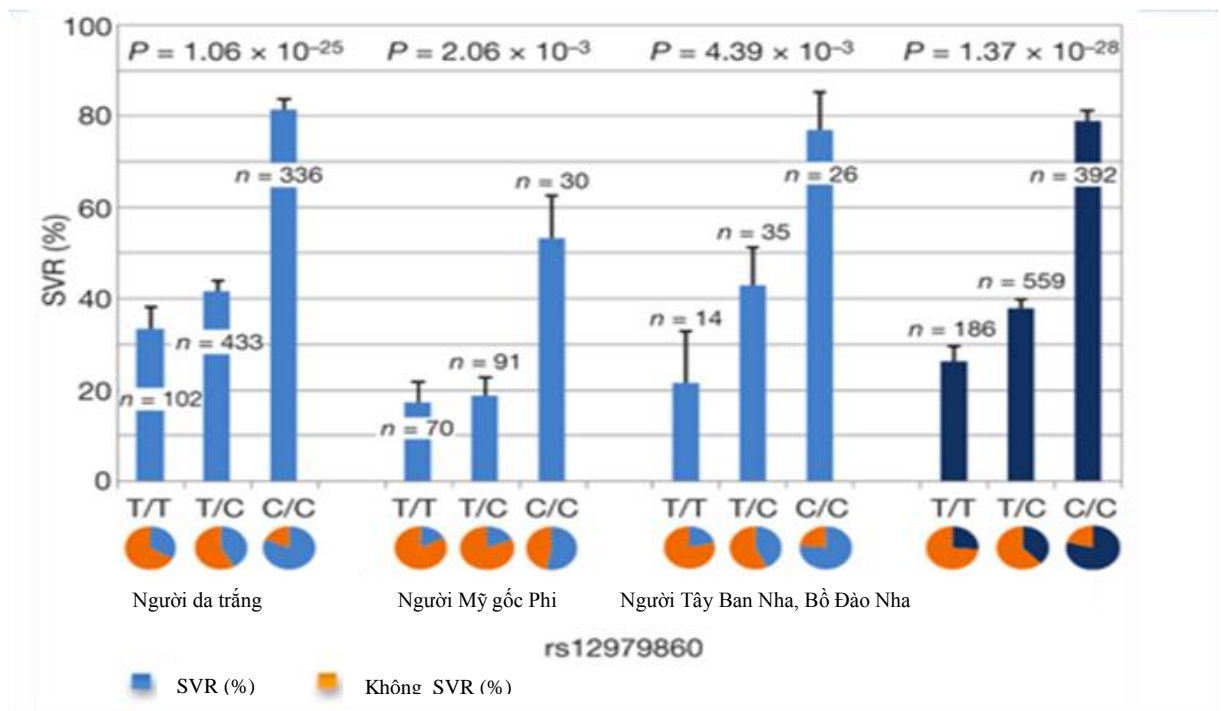
Hình 1.10. Tỷ lệ đào thải HCV theo kiểu gen rs12979860

“Nguồn: David L Thomas, 2009” [30]

Nghiên cứu GWAS (genome-wide association studies) khảo sát 1.671 bệnh nhân gồm những bệnh nhân đang được điều trị thử nghiệm Interferon-Ribavirin trong nghiên cứu IDEAL và những bệnh nhân người Mỹ gốc Phi trong một thử nghiệm lâm sàng [41].

Liệu pháp điều trị phối hợp pegIFN với Ribavirin ở bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1 thành công gấp 2-3 lần nếu bệnh nhân mang kiểu gen rs12979860 CC so với kiểu gen CT hoặc TT.

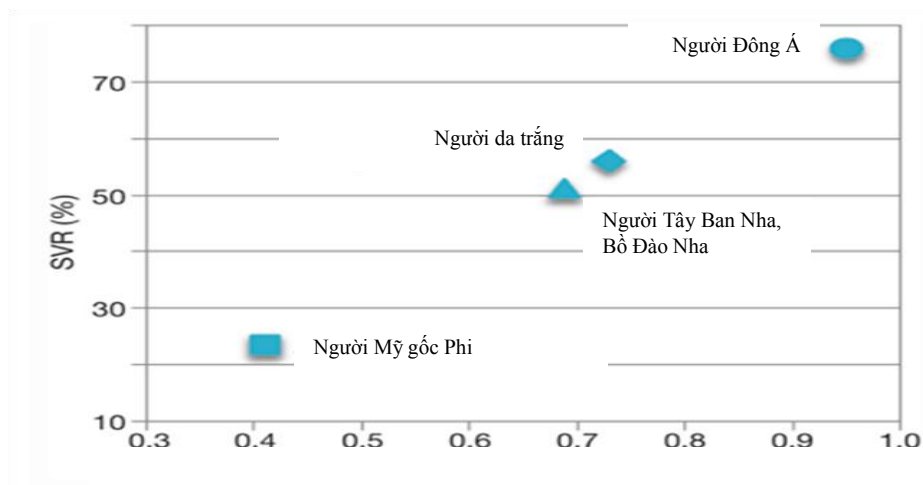
Mối liên hệ tương tự đã được ghi nhận ở nhiều nhóm chủng tộc khác nhau bao gồm người Mỹ gốc Châu Âu ($p = 1,06 \times 10^{-25}$, 95% CI 1,8-2,3), người Mỹ gốc Phi ($p = 2,06 \times 10^{-3}$, 95% CI 1,9-4,7), người Tây Ban Nha và Bồ Đào Nha ($p = 4,39 \times 10^{-3}$, 95% CI 1,4-3,2). Kiểu gen CC cũng có liên hệ làm tăng đào thải HCV tự phát gấp ba lần, không phụ thuộc vào chủng tộc [88].



Hình 1.11. Tỷ lệ SVR theo kiểu gen IL28B

“Nguồn: Dongliang Ge et al, 2009” [41]

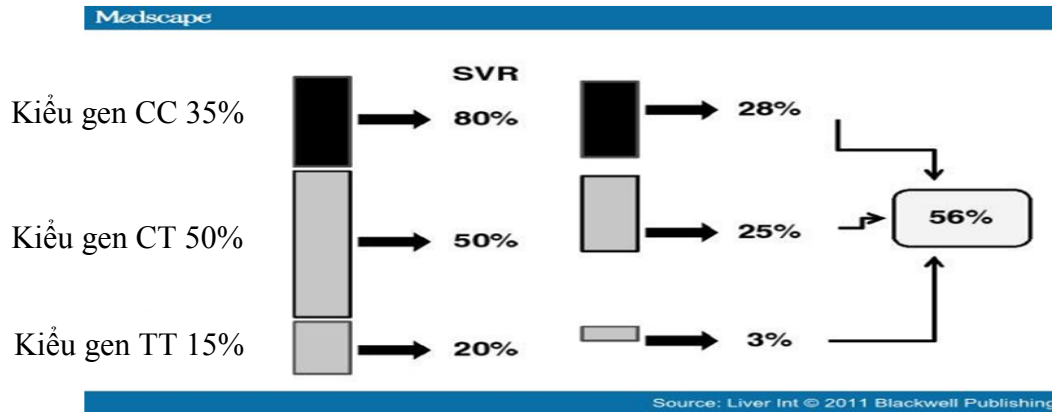
Dạng biến đổi allele C của SNP rs12979860 giải thích sự khác biệt về đào thải HCV tự phát cũng như sự khác biệt về đáp ứng điều trị đối với pegIFN-Ribavirin ở các chủng tộc. Kiểu gen rs12979860 C phổ biến nhất ở người Đông Á (> 90%) và ít nhất ở người gốc Phi (20-50%). Trong một nghiên cứu ở Mỹ, kiểu gen thuận lợi CC tìm thấy ở 37% người da trắng, 29% ở người Tây Ban Nha và Bồ Đào Nha và 14% ở người Mỹ gốc Phi [88].



Hình 1.12. Tỷ lệ kiểu gen IL28B CC theo chủng tộc

“Nguồn: Dongliang Ge et al, 2009” [41]

Năm 2011, Erik Alestig và cộng sự nghiên cứu 50 bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1. Kết quả cho thấy SNP rs 12979860 có tác động mạnh mẽ đến đáp ứng điều trị. 16/18 bệnh nhân có kiểu gen CC đạt đáp ứng virút bền vững. Ngược lại bệnh nhân có kiểu gen TT hầu như không đạt được đáp ứng virút bền vững [34].



Hình 1.13. Ảnh hưởng của kiểu gen rs12979860 đến khả năng đạt SVR ở bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1

“Nguồn: Manuel Romero-Gomez et al, 2011” [64]

Một SNP thứ hai, rs8099917 T/G, cũng ở vùng gen IL28B có liên quan đến đào thải HCV tự phát và do điều trị trong một nghiên cứu ở Nhật [86]. Ảnh hưởng của kiểu gen rs8099917 T/T cũng đã được khẳng định trong các nghiên cứu độc lập GWAS (genome-wide association studies) ở Úc và Thụy Sĩ [78], [85]. rs12979860 và rs8099917 cách nhau khoảng 4.000 bases, tạo ra các haplotype đặc trưng cho một vài dân số.

ZhiFang Jia và cộng sự tổng quan lại 46 nghiên cứu độc lập cho thấy các SNP rs12979860 của IL28B giữ vai trò tiên lượng SVR đối với kiểu gen 1 và 4. Từ đó đề nghị việc xác định kiểu gen của IL28B chỉ nên thực hiện khi điều trị với kiểu gen 1, 4. Tương tự, đồng thuận 2016 của APASL (The Asian Pacific Association for the Study of the liver) xác nhận kiểu gen của IL28B tiên lượng cho SVR trong điều trị kiểu gen 1 và 4 với phác đồ Interferon-Ribavirin [98].

1.3.2. Nghiên cứu về IL28B tại Việt Nam

* Năm 2012, Phạm Hoàng Phiệt và cộng sự khảo sát hai SNP rs12979860 và rs8099917 [10]. Kết quả như sau:

- 407 bệnh nhân nhiễm HCV được xác định kiểu gen SNP rs12979860: CC 78%, CT 20% và TT 2%.

- 214 trường hợp được xác định kiểu gen SNP rs8099917: TT 79%, TG 17% và GG 4%.

- So sánh kiểu gen theo từng cặp của hai SNP rs12979860 và rs8099917:

SNP IL28B	TT	TG	GG
CC	154	1	6
CT	13	33	0
TT	2	2	3

* Năm 2012, Nguyễn Bảo Toàn và cộng sự công bố đề tài nghiên cứu “Tần suất kiểu gen IL28B (rs12979860) ở bệnh nhân Việt Nam nhiễm siêu vi C mạn tính tại Trung tâm Y khoa Medic”. Tác giả khảo sát 239 trường hợp với kết quả như sau: CC 77%, CT 22% và TT 1% [18].

* Năm 2013, Phạm Thị Thu Thủy và cộng sự nghiên cứu 89 bệnh nhân viêm gan C có kiểu gen 6. Tác giả ghi nhận kiểu gen của rs12979860 trên gen IL28B có ý nghĩa tiên lượng cho RVR nhưng không có vai trò trong tiên lượng EVR và SVR [16].

1.4. DIỄN TIẾN TỰ NHIÊN CỦA NHIỄM HCV VÀ ĐIỀU TRỊ VIÊM GAN VIRÚT C

Diễn tiến tự nhiên của nhiễm HCV

Nhiễm cấp HCV

Chưa có một xét nghiệm nào cho phép khẳng định một trường hợp viêm gan virút C cấp. IgM Anti-HCV cũng thường tồn tại trong viêm gan virút C mạn. Các triệu chứng lâm sàng chỉ là biểu hiện của một trường hợp viêm gan cấp bởi bất cứ tác nhân virút nào mà thôi. Chỉ có thể khẳng định viêm gan

virút C cấp khi một bệnh nhân trước đó có Anti-HCV (-) và/hoặc HCV-RNA (-) nhưng khi nghi ngờ viêm gan C cấp thử lại thì thấy Anti-HCV và /hay HCV-RNA trở thành (+). Trường hợp này thường ít gặp trừ những tai nạn nghề nghiệp gây nhiễm cho nhân viên y tế hay sau khi phơi nhiễm với các yếu tố nguy cơ cao. Kháng thể Anti-HCV thường xuất hiện muộn từ 8 đến 12 tuần (thậm chí có khi sau 24 tuần) sau phơi nhiễm bởi HCV. Ngược lại, HCV-RNA hay kháng nguyên lõi (core Antigen- HCCAg) của HCV có thể phát hiện sớm từ 1 – 2 tuần sau phơi nhiễm. Bởi vậy những bệnh nhân dù hệ miễn dịch bình thường nhưng sau lây nhiễm có một giai đoạn Anti-HCV (-) nhưng HCV-RNA lại (+). Trên thực tế, có 20-50% người bị nhiễm HCV cấp có thể tự lành trong vòng 12 tuần sau khi xuất hiện các triệu chứng lâm sàng và những yếu tố thuận lợi cho khả năng tự lành bao gồm: có kiểu gen tốt của vùng IL28B, nữ giới, có triệu chứng lâm sàng rõ. Bởi vậy xu hướng hiện nay là sau khi có chẩn đoán xác định là viêm gan virút C cấp người ta không điều trị ngay mà “điều trị trì hoãn” khoảng 12 tuần sau khi có triệu chứng nhất là đối với những bệnh nhân có các yếu tố thuận lợi cho lành bệnh tự nhiên để chờ đợi khả năng tự lành của bệnh nhân [12].

Nhiễm mạn tính HCV

Sau khi bị nhiễm HCV trên 6 tháng mà vẫn tồn tại HCV-RNA được xem là nhiễm mạn tính HCV. Đối với gan, nhiễm HCV là một bệnh lý sinh xơ hóa (fibrogenesis) nhanh hoặc chậm cho phần lớn bệnh nhân kể cả những trường hợp ALT bình thường liên tục. Tốc độ tiến triển của xơ hóa gan vào khoảng 0,10 đến 0,13 đơn vị/năm trên thang METAVIR. Theo các nghiên cứu trên bệnh nhân nhiễm HCV mạn tính thì có khoảng 20% đến 30% sẽ xảy ra biến chứng nặng là xơ gan, suy gan hay HCC trong cuộc đời và biến chứng HCC thường xảy ra sau khi xơ gan khoảng 10 năm. Những yếu tố làm cho bệnh tiến triển nhanh đến biến chứng nặng bao gồm: tuổi bị nhiễm > 40, uống bia rượu có > 50g cồn/ngày, nam giới, đồng nhiễm HIV, HBV, ALT cao,

GGT cao, béo phì, đái tháo đường và kháng insulin. Điều trị thành công nhiễm HCV mạn ngăn chặn và hạn chế được các biến chứng và tình trạng xơ hóa của gan có thể phục hồi với tốc độ khoảng 0,20 đến 0,25 đơn vị/năm trên thang điểm METAVIR [12].

Không nhất thiết phải điều trị viêm gan virút C cho tất cả các trường hợp nhiễm HCV do đáp ứng miễn dịch ở một số bệnh nhân sẽ đào thải virút và có trường hợp bệnh nhân nhiễm khuẩn mạn tính nhưng không có tổn thương gan. Đối với những bệnh nhân cần điều trị, mục đích sau cùng là loại bỏ virút. Tỷ lệ khỏi bệnh phụ thuộc vào nhiều yếu tố bao gồm chủng virút và loại thuốc điều trị.

Thuốc đặc trị viêm gan virút C thay đổi nhanh chóng. Sofosbuvir, Daclatasvir và dạng kết hợp Sofosbuvir/Ledipasvir là những thuốc được ưa chuộng theo hướng dẫn điều trị của WHO. Các loại thuốc này hiệu quả, an toàn và dung nạp tốt hơn phác đồ Interferon-Ribavirin. Phác đồ DAA (direct-acting antiviral) có thời gian điều trị ngắn 8-12 tuần, uống 1 viên/ngày, ít tác dụng phụ, có hiệu quả hơn 95% trong khi phác đồ Interferon-Ribavirin hiệu quả dưới 50%, phải chích hàng tuần trong 12 tháng, có nhiều tác dụng phụ và thậm chí gây tử vong [51].

Các thuốc điều trị viêm gan virút C

Trước khi HCV được xác định như là tác nhân gây bệnh viêm gan non-A non-B [Choo, 1989], Interferon (IFN) giúp bình thường hóa transaminase và cải thiện mô học gan. Sau khi xác định HCV, người ta có thể đánh giá được mức độ thành công của điều trị bằng sự biến mất HCV-RNA trong huyết thanh. Từ đó, tỷ lệ SVR đã tăng lên, từ 5-20% với IFN đơn trị liệu đến 40-50% khi kết hợp Interferon và Ribavirin (RBV). Sự xuất hiện PEG IFN là một bước chuyển biến lớn trong điều trị viêm gan C mạn. Hiện nay có 2 loại PEG IFN: PEG IFN α -2a (PEGASYS, Hoffmann La-Roche) và PEG IFN α -2b (Peg-Intron, MSD). Nhờ sự thay đổi dược động học, các thuốc này chỉ cần

tiêm mỗi tuần một lần. Gần đây, xuất hiện các thuốc ức chế protease giúp rút ngắn thời gian điều trị và đưa tỷ lệ SVR lên đến hơn 95%.

*** PEG IFN alpha**

Cả hai loại PEG IFN α -2a và PEG IFN α -2b đã được Cục kiểm nghiệm thuốc và dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) và các cơ quan y tế Châu Âu chấp thuận cho điều trị viêm gan C. Interferon alpha là một cytokin tự nhiên có khả năng kháng virút, điều biến miễn dịch và kháng viêm. Cơ chế chính xác của hoạt động kháng HCV không được biết rõ, nhưng nó được cho là liên quan đến việc kích hoạt gen kích thích Interferon (Interferon-stimulated genes, ISGs), là tác nhân bảo vệ vật chủ tự nhiên chống lại nhiễm virút. Tác dụng của ISGs là thải trừ HCV, nhưng mặt khác có thể gây ra nhiều tác dụng phụ liên quan đến thuốc này.

PEG IFN là sự gắn kết một polyme tan trong nước của polyethylene glycol vào phân tử IFN trong một chuỗi thẳng (linear-chain), loại PEG IFN α -2b hoặc chuỗi nhánh (PEG IFN α -2a). PEG IFN cải thiện dược động học và thời gian bán hủy của thuốc, làm tăng hiệu quả điều trị và cho phép chỉ tiêm mỗi tuần 1 lần.

Liều dùng:

PEG IFN α -2a: 180ug/tuần

PEG IFN α -2b: 1,5ug/kg/tuần

Mặc dù một số nghiên cứu nhỏ ở Nam Âu gợi ý có thể đạt SVR cao hơn một chút ở nhóm điều trị bằng PEG IFN α -2a (Rumi; Ascione), một nghiên cứu lớn, đa trung tâm ở Hoa Kỳ không phát hiện sự khác nhau nào có ý nghĩa ở hai nhóm điều trị bằng hai loại PEG IFN và RBV về phương diện đạt SVR [McHutchinson, 2007].

* Ribavirin

Ribavirin được chấp thuận để điều trị viêm gan C mạn tính khi được sử dụng kết hợp với Interferon α -2a hoặc PEG IFN. Ribavirin là một chất tương tự guanosine, có tác dụng cải thiện thái virút, giảm tỷ lệ tái phát và nâng cao tỷ lệ đáp ứng virút bền vững (SVR) khi sử dụng kết hợp với PEG IFN so với PEG IFN đơn trị liệu. Mặc dù đã được sử dụng ở những bệnh nhân viêm gan virút C trong hơn 10 năm, cơ chế chính xác của Ribavirin giúp cải thiện kết quả vẫn còn chưa rõ.

Người ta cho rằng RBV có tác dụng ức chế inosine monophosphate dehydrogenase, thúc đẩy phản ứng miễn dịch Th1, đột biến và cảm ứng gen kích thích Interferon. Đến nay, Ribavirin vẫn là một phần quan trọng trong điều trị viêm gan C, kể cả với các thuốc kháng virút trực tiếp (DAAs) [Hézode, 2009; Kwo, 2010]. Nghiên cứu gần đây với Telaprevir và Boceprevir đã cho thấy phác đồ điều trị bao gồm Ribavirin làm giảm sự xuất hiện những biến thể kháng thuốc và cải thiện rõ rệt tỷ lệ SVR. Tuy nhiên liệu việc sử dụng Ribavirin sẽ còn cần thiết với DAAs trong tương lai hay không chưa được biết rõ.

RBV cần được chỉ định với liều lượng tùy theo trọng lượng cơ thể bệnh nhân. Một nghiên cứu hồi cứu cho thấy liều RBV thích hợp là 11 mg/kg [Manns, 2001]. Một nghiên cứu tiến cứu đa trung tâm xác định PEG IFN α -2b kết hợp RBV dựa trên trọng lượng bệnh nhân có hiệu quả hơn RBV liều không thay đổi, nhất là đối với bệnh nhân có kiểu gen 1 [Jacobson, 2007]. Khi kết hợp với PEG IFN α -2a, liều RBV được khuyến cáo là 1000 mg nếu trọng lượng cơ thể thấp hơn 75 kg và 1200 mg nếu cao hơn 75 kg. Đối với kiểu gen 2 và 3, liều RBV là 800 mg cho tất cả bệnh nhân [Hadziyannis, 2004].

* Các thuốc ức chế protease

Năm 2011, các thuốc mới Boceprevir và Telaprevir đã được Cục quản lý dược và thực phẩm Hoa Kỳ (FDA) và các Cơ quan y tế Châu Âu phê duyệt kết hợp với PEG IFN/Ribavirin để điều trị những bệnh nhân viêm gan C mạn kiểu gen 1, điều trị ban đầu hoặc đã thất bại điều trị. Đây là bước khởi đầu cho sự xuất hiện của một loại thuốc mới, tạo một sự đột phá lớn trong điều trị viêm gan virút C. Cả hai thuốc này là chất ức chế NS3/4A và có tác động chống lại một protease cần thiết cho sự phân tách polyprotein của virút trong và sau khi dịch mã. Bằng cách ngăn chặn bước quan trọng này trong vòng đời của virút, cả hai loại thuốc đều ức chế sự nhân lên của HCV. Phác đồ mới giúp cải thiện tỷ lệ SVR ở kiểu gen 1 lên đến 75% ở người chưa điều trị và 29-88% ở những người đã điều trị. Cả hai loại Telaprevir và Boceprevir có thể kết hợp với PEG IFN α -2a và 2b.

Năm 2013, Simeprevir (thuốc ức chế NS3/4A thế hệ hai) và Sofosbuvir (thuốc ức chế polymerase tương tự nucleotide) được chấp thuận đưa vào điều trị viêm gan C. Phác đồ có hai thuốc này đưa tỷ lệ SVR lên đến 90-100% và giúp rút ngắn đáng kể thời gian điều trị.

Ledipasvir là thuốc ức chế NS5A, dùng liều cố định 90 mg, mỗi ngày 1 lần. Afdhal và cộng sự đã thực hiện nghiên cứu kết hợp Ledipasvir và Sofosbuvir để điều trị bệnh nhân kiểu gen 1 có hoặc không kèm RBV trong 12 hoặc 24 tuần. Kết quả cho thấy phác đồ này có hiệu quả rất cao trong điều trị bệnh nhân viêm gan C kiểu gen 1. Tỷ lệ đáp ứng bền vững lên đến 99% và 98% ở nhóm 12 tuần và 24 tuần không kèm RBV, 97% và 99% ở nhóm 12 tuần và 24 tuần có RBV. Phác đồ kết hợp Ledipasvir và Sofosbuvir cũng có hiệu quả đối với bệnh nhân xơ gan còn bù hoặc những bệnh nhân chưa có đáp ứng hoàn toàn trong những điều trị trước đó [3].

1.5. MỐI LIÊN QUAN GIỮA IL28B VỚI KIỂU GEN HCV VÀ ĐỘT BIẾN VÙNG CORE HCV

1.5.1. Mối liên quan giữa IL28B với kiểu gen HCV

- Năm 2011, Christoph Sarrazin và cộng sự khảo sát “Tầm quan trọng của đa hình gen IL28B ở bệnh nhân viêm gan virút C kiểu gen 2 và 3”. Tham gia nghiên cứu gồm 267 bệnh nhân viêm gan virút C kiểu gen 2 và 3, 378 bệnh nhân viêm gan virút C kiểu gen 1 và nhóm chứng gồm 200 người khỏe mạnh. Kết quả định kiểu gen rs12979860 IL28B CC như sau: nhiễm HCV kiểu gen 1 (33,9%), nhiễm HCV kiểu gen 3 (38,9%), nhiễm HCV kiểu gen 2 (51,9%) và nhóm chứng (49,0%), $p < 0,01$. Như vậy, tần suất kiểu gen rs12979860 IL28B CC của bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1 thấp hơn so với bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 2 và 3 [82].

- Năm 2016, Fateme Zare công bố đề tài “Tác dụng của đa hình gen IL28B lên đáp ứng điều trị ở bệnh nhân Iran nhiễm HCV”. Có 75 bệnh nhân tham gia nghiên cứu, bị nhiễm HCV kiểu gen 1 và 3. Kết quả ghi nhận không có sự liên quan giữa các kiểu gen HCV và SNP rs12979860 IL28B [35].

- Cũng trong năm 2016 Maryam báo cáo đề tài “Không có mối liên hệ giữa đa hình gen IL28B (rs8099917G/T, rs12979860 C/T) với khả năng nhiễm HCV ở Tehran, Iran”. Đây là nghiên cứu bệnh-chứng với 288 bệnh nhân viêm gan C mạn tính và 250 người khỏe mạnh. Kết quả cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa của tần suất và phân bố kiểu gen SNP rs12979860 IL28B trong cả hai nhóm bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1a và 3a [66].

1.5.2. Mối liên quan giữa IL28B với đột biến vùng core HCV

- Năm 2010, Mariko Kobayashi và cộng sự nghiên cứu đề tài “Mối liên quan giữa SNP IL28B và đột biến axit amin ở vùng core HCV của bệnh nhân người Nhật viêm gan C mạn tính”. Tác giả kết luận tần suất đột biến dạng R70Q chiếm ưu thế ở nhóm bệnh nhân nữ mang kiểu gen CT, TT:

. Tỷ lệ đột biến R70Q ở bệnh nhân nữ mang kiểu gen CT, TT: 59,3%

- . Tỷ lệ đột biến R70Q ở bệnh nhân nam mang kiểu gen CT, TT: 52,0%
- . Tỷ lệ đột biến R70Q ở bệnh nhân nữ mang kiểu gen CC: 32,1%
- . Tỷ lệ đột biến R70Q ở bệnh nhân nam mang kiểu gen CC: 21,6% [65].
- Năm 2011, Alestig công bố đề tài “Đột biến vùng core, đa hình IL28B và đáp ứng với phác đồ pegInterferon/ribavirin ở bệnh nhân Thụy Điển viêm gan virút C kiểu gen 1”. Trước khi điều trị bằng phác đồ Peginterferon/Ribavirin, nhóm nghiên cứu đã xác định đột biến vùng core HCV của 50 bệnh nhân. Đồng thời tiến hành định kiểu gen SNP rs12979860 IL28B của tất cả các bệnh nhân. Kết quả cho thấy không có mối liên quan giữa rs12979860 với đột biến vùng core HCV [34].
- Năm 2016, Danesh Kadjabaf và cộng sự khảo sát đề tài “Tần suất đột biến axit amin 70 vùng core HCV và kiểu gen của đa hình gần gen IFNL3 ở bệnh nhân viêm gan virút C mạn tính”. Có 429 bệnh nhân tham gia nghiên cứu trong số đó 426 bệnh nhân được định kiểu gen rs12979860. Kết quả có 75 bệnh nhân mang kiểu gen TT. Tác giả kết luận đột biến axit amin 70 vùng core HCV phổ biến hơn ở nhóm bệnh nhân mang kiểu gen rs12979860 TT so với nhóm bệnh nhân không mang kiểu gen này (17,3% so với 8,5%, $p = 0,022$) [27].

1.5.3. Mối liên quan giữa các kiểu gen HCV với đột biến vùng core HCV

- Năm 2011, Yasumi Furui và cộng sự khảo sát 114 người hiến máu tình nguyện nhiễm HCV cấp. Đột biến vùng core HCV xảy ra ở nhóm bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1b, không xuất hiện ở các kiểu gen HCV khác [39].
- Năm 2012, Rossana C Jaspe và cộng sự tiến hành xác định đột biến vùng core HCV ở bệnh nhân Venezuela, có 266 người tham gia với các kiểu gen HCV gồm 1a, 1b, 2a, 2b, 2c, 2j và 3a. Kết quả ghi nhận có hai dạng đột biến R70Q và L/C91M và chủ yếu xuất hiện ở kiểu gen 1b (lần lượt là 30/38-79% và 26/38-68%) [80].

Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. THIẾT KẾ NGHIÊN CỨU: nghiên cứu mô tả cắt ngang

2.2. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

2.2.1. DÂN SỐ MỤC TIÊU

Người nhiễm HCV

2.2.2. DÂN SỐ CHỌN MẪU

Bệnh nhân nhiễm HCV đến khám và điều trị tại Bệnh viện Tỉnh Trà Vinh chưa được điều trị thuốc kháng virút.

2.2.3. CỖ MẪU

Là nghiên cứu mô tả cắt ngang nên cỡ mẫu tối thiểu được tính theo công thức:

$$n = \frac{Z_{(1-\alpha/2)}^2 \times p \times (1-p)}{d^2}$$

$$Z_{(1-\alpha/2)} = 1,96 \text{ (độ tin cậy 95\%, } \alpha = 0,05)$$

$$p = 90\% \text{ (tỷ lệ kiểu gen IL28B CC) [30]}$$

$$d = 5\% \text{ (sai số cho phép)}$$

$$n = 138$$

2.3. TIÊU CHÍ CHỌN MẪU

2.3.1. Tiêu chí chọn

Bệnh nhân có Anti-HCV (+).

2.3.2. Tiêu chí loại trừ

Không có tiêu chí loại trừ. Tuy nhiên đối với những trường hợp không xác định được kiểu gen HCV do tải lượng HCV-RNA quá thấp (< 1000 IU/ml) sẽ không đưa vào phân tích kết quả.

2.4. KỸ THUẬT CHỌN MẪU

- Chọn mẫu thuận tiện, không xác suất. Bệnh nhân thỏa tiêu chí chọn và không có tiêu chí loại trừ sẽ được tuyển chọn liên tục.

- Do trong nhóm bệnh nhân tham gia nghiên cứu sẽ có trường hợp HCV-RNA (-) (< 27 IU/ml) nên sẽ tiến hành lấy mẫu cho đến khi nhóm bệnh nhân này ≥ 30 người và cỡ mẫu ≥ 138 người.

2.5. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.5.1. LIỆT KÊ VÀ ĐỊNH NGHĨA CÁC BIẾN SỐ

2.5.1.1 CÁC BIẾN SỐ ĐỊNH TÍNH

* Kiểu gen HCV

Kiểu gen HCV là biến số định tính có sáu giá trị:

- Kiểu gen 1
- Kiểu gen 2
- Kiểu gen 3
- Kiểu gen 4
- Kiểu gen 5
- Kiểu gen 6

* Đột biến vùng core HCV

Đột biến vùng core HCV là biến số định tính có hai giá trị:

- Có đột biến
- Không có đột biến

Đến nay, các đột biến vùng core HCV thường gặp là:

- R70Q
- R70H
- R70P
- R70L
- L91M
- L91C [27], [75]

* Kiểu gen IL28B

Kiểu gen IL28B là biến số nhị giá có hai giá trị:

- Kiểu gen IL28B CC.
- Kiểu gen CT, TT

*** Giới**

Giới là biến số nhị giá có hai giá trị:

- Nam
- Nữ

2.5.1.2. BIẾN SỐ ĐỊNH LƯỢNG

* Tải lượng HCV là biến số định lượng, được tính theo đơn vị UI/ml.

* Tuổi là biến số nhị giá có hai giá trị:

- ≤ 60
- > 60

2.6. QUÁ TRÌNH THỰC HIỆN

2.6.1. MÔ TẢ ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU

*** Tỉnh Trà Vinh**

Trà Vinh là một tỉnh thuộc đồng bằng sông Cửu Long, nằm giữa sông Tiền và sông Hậu, cách Thành phố Hồ Chí Minh 130 km, cách Thành phố Cần Thơ 100 km, giáp với các tỉnh Bến Tre, Vĩnh Long và Sóc Trăng. Tỉnh Trà Vinh gồm có Thành phố Trà Vinh, Thị xã Duyên Hải và 7 huyện với 100 xã, phường và thị trấn. Dân số Trà Vinh khoảng trên 1 triệu người, trong đó có 30% là người dân tộc Khmer.

*** Bệnh viện đa khoa Trà Vinh**

Tọa lạc ở số 27, đường Điện Biên Phủ, phường 6, Thành phố Trà Vinh, là bệnh viện đa khoa hạng 2 với quy mô 500 giường bệnh. Bệnh viện hiện có 700 công nhân viên với trên 150 bác sĩ.

*** Phòng xét nghiệm Nam Khoa-Biotek**

Được đặt tại số 793/58 Trần Xuân Soạn, phường Tân Hưng, Quận 7, Thành phố Hồ Chí Minh. Phòng xét nghiệm được trang bị các loại máy hiện đại, đặc biệt các máy xét nghiệm PCR, giải trình tự, có thể tiến hành các xét nghiệm PCR tự động với độ chính xác cao.

2.6.2. CÁC BƯỚC CHUẨN BỊ

*** Bệnh viện tỉnh Trà Vinh**

Tháng 3 năm 2012, sau khi trình đề cương nghiên cứu cho Ban giám đốc Bệnh viện tỉnh Trà Vinh, đề tài nghiên cứu đã được sự đồng ý và hỗ trợ của lãnh đạo bệnh viện. Góp phần quan trọng cho đề tài nghiên cứu là các thành viên thuộc Khoa xét nghiệm và Phòng khám Bệnh viện tỉnh Trà Vinh. Những thành viên này sẽ giúp NCS trong việc tư vấn, thu thập bệnh phẩm và trả kết quả xét nghiệm cho bệnh nhân.

*** Tập huấn cho các thành viên trong nhóm nghiên cứu**

NCS tập huấn cho các thành viên trong nhóm nghiên cứu về các nội dung:

- Kiến thức cơ bản về HCV để sẵn sàng giải thích các thắc mắc, tư vấn cho bệnh nhân khi cần thiết.
- Giải thích cho bệnh nhân lợi ích của việc tham gia nghiên cứu.
- Thu thập thông tin của bệnh nhân.
- Thu thập và bảo quản mẫu thử.

2.6.3. CÁC BƯỚC THỰC HIỆN CHÍNH

*** TẠI PHÒNG KHÁM BỆNH VIỆN ĐA KHOA TRÀ VINH**

Bệnh nhân đến Phòng khám Nhiễm BVĐK Trà Vinh (có Anti-HCV (+)) được trực tiếp NCS hoặc các thành viên trong nhóm nghiên cứu giải thích rõ về mục tiêu và chương trình nghiên cứu. Những bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu và ký vào bản đồng thuận (phụ lục 1) được lấy 3 ml máu tĩnh mạch, cho vào ống EDTA, sau đó quay ly tâm tách huyết tương và bảo quản ở tủ đông – 35⁰C.

*** TẠI PHÒNG XÉT NGHIỆM SINH HỌC PHÂN TỬ**

Nghiên cứu sinh cùng với các kỹ thuật viên tiến hành ly trích HCV-RNA và thực hiện 4 xét nghiệm:

- Định lượng HCV-RNA bằng kỹ thuật real-time PCR sử dụng Taqman probe.

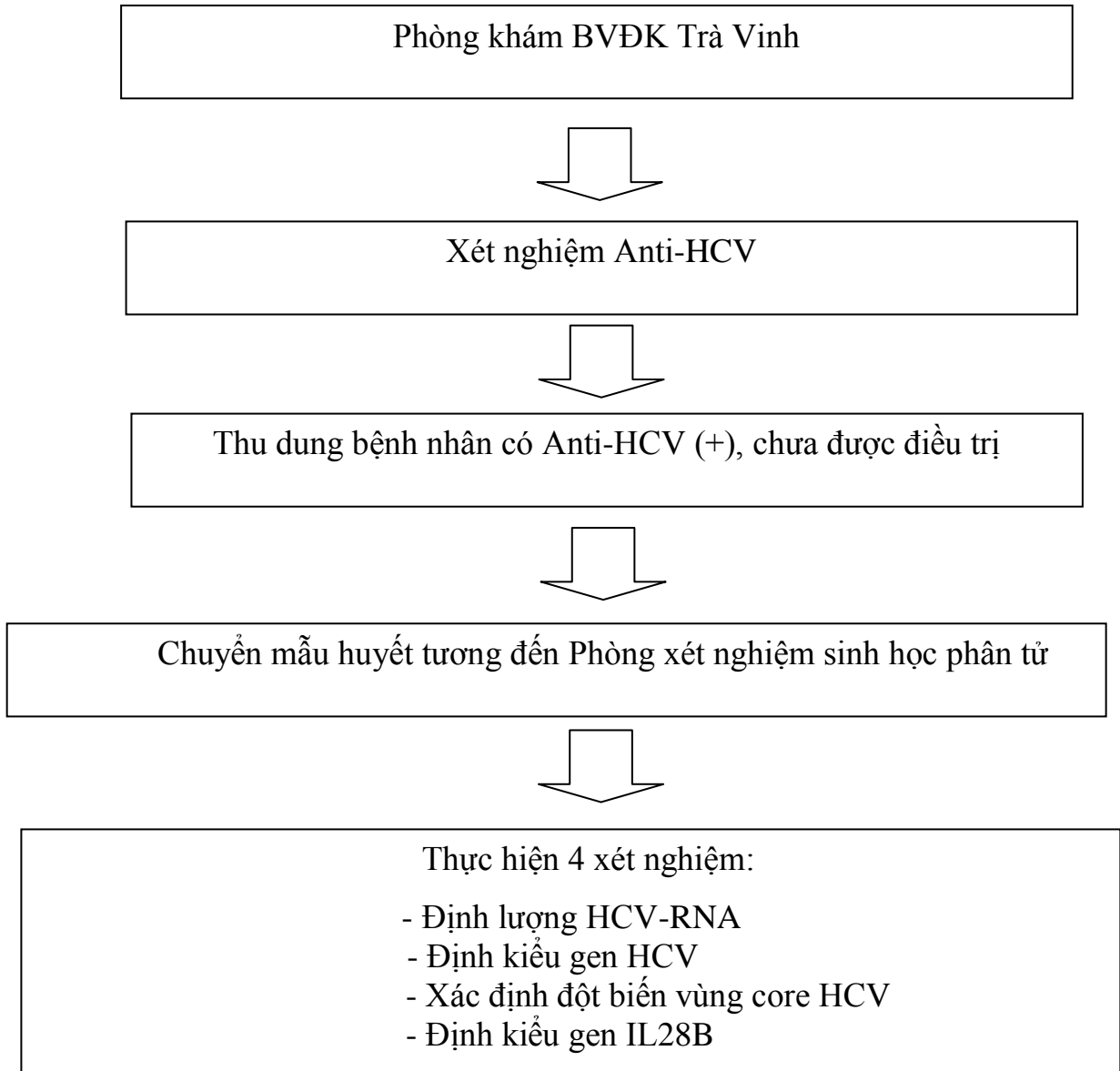
- Định kiểu gen HCV bằng kỹ thuật giải trình tự vùng NS5B.

- Xác định đột biến vùng core HCV bằng kỹ thuật giải trình tự.

- Định kiểu gen IL28B bằng kỹ thuật real-time PCR sử dụng Taqman probe.

Sau khi có kết quả xét nghiệm, nghiên cứu sinh trực tiếp thông báo cho bệnh nhân về tình trạng nhiễm HCV.

Nghiên cứu sinh kiểm soát và điều phối nhân lực, vật lực trong toàn bộ quá trình nghiên cứu kể từ khi bắt đầu tiến hành tại Phòng khám Nhiễm, Bệnh viện đa khoa Trà Vinh cho đến khi có kết quả xét nghiệm. Nghiên cứu sinh trực tiếp trả lời các kết quả xét nghiệm, giải đáp thắc mắc, tư vấn cho bệnh nhân trong hầu hết các trường hợp.



Sơ đồ 2.1. Mô tả các bước thực hiện chính trong nghiên cứu

2.7. CÁC PHƯƠNG TIỆN THỰC HIỆN NGHIÊN CỨU

2.7.1. XÉT NGHIỆM Anti-HCV

* Nguyên tắc

Anti-HCV trong huyết thanh của bệnh nhân được xác định bằng phương pháp ELISA. Xét nghiệm Anti-HCV được thực hiện bằng bộ sinh phẩm chẩn đoán Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA của Công ty BIO-RAD với độ nhạy là 100%, độ chuyên biệt 99,83%.

* Các bước tiến hành

Xét nghiệm Anti-HCV được thực hiện bằng máy miễn dịch tự động EVOLIS. Sau đây là các bước của quá trình xét nghiệm:

- Nhỏ 100 ul conjugate 1 (R6) vào các giếng.
- Nhỏ 50 ul huyết thanh kiểm chứng âm (R3) vào giếng A1.
- Nhỏ 50 ul huyết thanh kiểm chứng dương (R4) vào các giếng B1, C1, D1
- Nhỏ 50 ul dung dịch sử dụng kiểm chứng dương kháng nguyên (R5a + R5b) vào giếng E1.
- Nhỏ 50 ul huyết thanh bệnh nhân vào các giếng còn lại.
- Lắc đều 5 giây, ủ ở 37⁰C/ 90 phút.
- Rửa bằng dung dịch rửa 5 lần.
- Nhỏ 100 ul dung dịch conjugate 2 (R7) vào các giếng. Ủ ở 37⁰C/ 30'.
- Rửa bằng dung dịch rửa 5 lần.
- Nhỏ 80 ul dung dịch hiện màu (R8 + R9) vào các giếng. Ủ ở 30⁰C/30'.
- Nhỏ 100 ul dung dịch ngừng phản ứng (R10) vào các giếng.
- Đọc mật độ quang (OD) ở bước sóng 450/620-700 nm.
- Tính toán và diễn giải kết quả

. Mật độ quang trung bình của chứng dương:

$$\text{Mean OD R4} = (\text{B1} + \text{C1} + \text{D1})/3$$

. Giá trị ngưỡng:

$$CO = \text{Mean OD R4/4}$$

. Kết quả:

Mẫu thử có $OD < CO$ được xem là (-).

Mẫu thử có $OD \geq CO$ được xem là (+).



Hình 2.1. Máy Evolis tại Khoa xét nghiệm BVĐK Trà Vinh

2.7.2. Định lượng HCV-RNA

* Tách chiết HCV-RNA bằng máy tự động Fisher

- Khay mẫu : 10 ul chứng nội tại
 200 ul huyết tương
 20 ul proteinase K (phá màng tế bào)
- Khay Wash 1: Isopropanol + GuanidinSCN + Tris HCl (700 ul)
- Khay Wash 2: Ethanol 70% (700 ul)
- Khay Wash 3: Ethanol 100% (700 ul)
- Khay Elution: 100 ul Tris, EDTA

Cài máy, ủ 15 phút.

Cho: 700 ul dung dịch ly giải Binding Fisher
 20 ul hạt từ

Ủ tiếp 45 phút, có được HCV-RNA.



Hình 2.2. Máy ly trích RNA

*** Định lượng HCV-RNA**

Tổng hợp cDNA từ RNA

- 15 ul RNA + 5 ul Master Mix
- Chu kỳ nhiệt: 25°C/5 phút
- 42°C/30 phút 40 chu kỳ
- 85°C/5 phút

Định lượng HCV

- 5 ul cDNA + 15 ul Master Mix
- Chu kỳ nhiệt: 95°C/15 phút
- 94°C/15” 40 chu kỳ
- 60°C/1 phút
- Chụp hình ở 60°C



Hình 2.3. Máy PCR Real-time

2.7.3. Xác định kiểu gen HCV dựa vào vùng gen NS5B

Gồm các bước như sau:

1. Chạy HCV out:

- 5 ul cDNA + 15 ul Master Mix
- Chu kỳ nhiệt: 95°C/15'
- 94°C/30''
- 45°C/30'' 40 chu kỳ
- 72°C/1 phút
- 72°C/10 phút

2. Chạy HCV in:

- 1 ul HCV out + 15 ul Master Mix
- Chu kỳ nhiệt: 95°C/15'
- 94°C/30''
- 50°C/30'' 40 chu kỳ
- 72°C/1 phút
- 72°C/10 phút

3. Chạy điện di kiểm tra xem có vạch sản phẩm không ?

4. Tinh sạch sản phẩm PCR:

- Load: 1 ul Illustrate™ Alkaline phosphatase
1 ul Illustrate™ Exonuclease 1
5 ul HCV in
- Chu kỳ nhiệt:
37°C/15 phút (enzym cắt DNA thừa)
80°C/15 phút (Hủy enzym cắt)

5. Chạy Maxter Mix sequencing (chứa dTTP, 1 mỗi)

- 1 ul sản phẩm tinh sạch + 20 ul Master Mix
- Chu kỳ nhiệt: 96°C/1 phút
96°C/10''
50°C/5'' 25 chu kỳ
60°C/4 phút

6. Tủa DNA:

- Ly tâm sản phẩm PCR sequencing 500 RCF (rotation centrifugation force) trong 1 phút

- 1 Mix gồm: 2 ul EDTA 125 mM
2 ul Na Acetate 3M
20 ul sản phẩm PCR sequencing
50 ul EtOH 100%

- Trộn EDTA và Na Acetate
- Load mẫu vừa chạy Mix Sequencing 20 ul
- Hút 50 ul EtOH bằng Multipipette
- Trộn đều
- Load vào giếng, ủ 25°C/ 15 phút
- Ly tâm 1700 RCF/15'
- Úp plate ngược, có lót giấy thấm
- Ly tâm 185 RCF

- Cho 70 ul EtOH 70%
- Ly tâm 1700 RCF/15 phút
- Úp ngược plate, ly tâm 185 RCF
- Làm khô trong vacuum khoảng 15 phút
- Load 20 ul HID1 vào giếng
- Ủ 20 phút ở RT
- Ly tâm 185 RCF

7. Điện di mao quản bằng máy 3130 XL Genetic Analyzer ABI.

8. So sánh với trình tự chuỗi Wild kiểu gen trên gen Bank (HCV blast).

Máy cho ra kết quả kiểu gen, tỷ lệ bất cặp, so sánh bất cặp của trình tự chuẩn (wild kiểu gen) và trình tự HCV của bệnh nhân.



Hình 2.4. Máy giải trình tự

2.7.4. Xác định đột biến vùng core HCV

1. Chạy core out:

- 5 ul cDNA + 15 ul Master Mix (chứa primer out F và primer R)

- Chu kỳ nhiệt: 95°C/15'

95°C/30"

57°C/30" 40 chu kỳ

72°C/1 phút

72°C/10 phút

2. Chạy core in:

- 2 ul core out + 18 ul Master Mix (chứa primer in F và primer R)

- Chu kỳ nhiệt: 95°C/15'

95°C/30"

50°C/30" 40 chu kỳ

72°C/1 phút

72°C/10 phút

3. Điện di xem có band không ?

5. Tinh sạch sản phẩm

6. Giải trình tự

7. Dùng phần mềm SeqScape để phát hiện đột biến vùng core.

Khảo sát vị trí axit amin 70 và 91, so với chuỗi chuẩn xem có đột biến không ?

2.7.5. Xác định kiểu gen IL28B

*** Nguyên tắc**

Phương pháp dựa trên PCR khuếch đại một đoạn đặc hiệu dài khoảng 66 bp, chứa SNP (A) trên gen IL28B, rồi sản phẩm khuếch đại sẽ được phát hiện nhờ sự ly giải của taqman probe đặc hiệu SNP (A)-IL28B. Nguyên tắc là một khi có sản phẩm khuếch đại đặc hiệu xuất hiện trong ống PCR thì taqman probe đặc hiệu với trình tự đích sẽ bắt cặp vào sản phẩm khuếch đại và sẽ bị thủy giải bởi men taq polymerase (nhờ hoạt tính 5'-3' exonuclease) khi tổng hợp sợi bổ sung ở giai đoạn kéo dài. Sự thủy giải taqman probe sẽ làm tách rời chất phát huỳnh quang (fluorophore) ở đầu 5' khỏi chất hấp phụ huỳnh quang (quencher) ở đầu 3' của probe, nhờ vậy ống phản ứng sẽ phát huỳnh quang khi bị chiếu tia cực tím hay laser và sự phát huỳnh quang này sẽ được ghi nhận bởi đầu đọc real-time của máy. Để phân biệt được kiểu gen C/C, C/T hay T/T, có hai taqman probe đặc hiệu SNP (A) được sử dụng. Taqman probe đặc hiệu C được đánh dấu FAM, còn probe đặc hiệu T được đánh dấu HEX. Chính nhờ vậy mà nếu sản phẩm khuếch đại là C/C thì chỉ có probe đặc hiệu C bị ly giải. Nhờ vậy mà chỉ có kênh FAM có đường biểu diễn khuếch đại. Nếu sản phẩm khuếch đại là T/T thì chỉ có probe đặc hiệu T bị ly giải. Nhờ vậy mà chỉ có kênh HEX có đường biểu diễn khuếch đại. Còn nếu sản phẩm khuếch đại là C/T thì cả hai probe đặc hiệu C và probe đặc hiệu T đều bị ly giải. Nhờ vậy mà cả hai kênh FAM và kênh HEX đều có đường biểu diễn khuếch đại.

*** Tách chiết DNA người bằng bộ kit Quiagen**

1. Cho 20 ul Quiagen protease vào tube ly tâm 1,5 ml.
2. Cho 200 ul huyết tương vào tube.
3. Cho 200 ul Buffer AL vào tube. Trộn bằng cách vortex 15".
4. Ủ 56°C/10 phút.
5. Ly tâm nhanh để làm lắng giọt dính ở nắp tube.

6. Cho 200 ul Ethanol 96-100% vào tube, vortex 15". Ly tâm nhanh để làm lắng giọt dính ở nắp tube.
7. Rót dung dịch vào cột (được đặt trong một tube 2ml). Đậy nắp, ly tâm 8.000 rpm/1'. Lấy cột cho vào một tube 2ml khác. Vứt bỏ tube chứa dịch lọc.
8. Cho 500 ul Buffer AW1. Đậy nắp, ly tâm 8000 rpm/1'. Lấy cột cho vào một tube 2ml khác. Vứt bỏ tube chứa dịch lọc.
9. Cho 500 ul Buffer AW2. Đậy nắp, ly tâm 14.000 rpm/3'.
10. Cho cột vào một tube 2ml khác. Vứt bỏ tube chứa dịch lọc. Đậy nắp, ly tâm 14.000 rpm/1'.
11. Đặt cột vào tube ly tâm 1,5 ml. Vứt bỏ tube chứa dịch lọc. Cho vào cột 200 ul Buffer AE hoặc nước cất. Ủ ở nhiệt độ phòng (15-25°C) trong 1 phút. Ly tâm 8.000 rpm/1'. Vứt bỏ cột. Bảo quản tube chứa DNA ở - 20°C.

*** Định kiểu gen IL28B**

- 5 ul DNA + 20 ul Master Mix.

- Chạy chu kỳ nhiệt:

1 chu kỳ 95°C/3 phút

94°C/15" 40 chu kỳ

68°C/1 phút

Chụp hình tín hiệu huỳnh quang ở giai đoạn này

2.8. XỬ LÝ DỮ LIỆU

Nhập và xử lý dữ liệu bằng các phần mềm EXCEL và EPI-INFO 7.2.

2.9. PHÂN TÍCH DỮ LIỆU

2.9.1. BIẾN SỐ ĐỊNH LƯỢNG

2.9.1.1. Mô tả

Trong đề tài có một biến số định lượng là tải lượng HCV-RNA, được trình bày qua giá trị trung vị và giá trị trung bình.

2.9.1.2. Phân tích

Trong trường hợp việc biến đổi số liệu bằng hàm logarith là không phù hợp, biến số định lượng HCV-RNA sẽ được so sánh qua kiểm định phi tham số Mann Whitney test [5], [20].

2.9.2. CÁC BIẾN SỐ ĐỊNH TÍNH

2.9.2.1. Mô tả

Qua các bảng phân bố tần số, tỷ lệ.

2.9.2.2. Phân tích [5]

- Kiểm định chi bình phương hoặc kiểm định Fisher's exact test nếu kiểm định chi bình phương cho thấy không phù hợp do có 1 ô trong bảng Crosstab có vọng trị nhỏ hơn 5.

- Kiểm định ý nghĩa so sánh hai tỷ lệ theo công thức:

$$Z = \frac{|p_1 - p_2| - (1/2n_1 + 1/2n_2)}{\sqrt{p(1-p)(1/n_1 + 1/n_2)}} \quad p = \frac{r_1 + r_2}{n_1 + n_2}$$

$$(n_1 + n_2 > 40)$$

Khoảng tin cậy 95% được tính theo công thức:

$$(p_1 - p_2) \pm 1,96\sqrt{p_1(1-p_1)/n_1 + p_2(1-p_2)/n_2}$$

Tất cả các kiểm định được sử dụng trong nghiên cứu này đều có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha = 0,05$.

2.10. VẤN ĐỀ Y ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU

Đề cương nghiên cứu đã trình qua Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh. Nghiên cứu cũng đã được Hội đồng Khoa học Kỹ thuật của Bệnh viện đa khoa Tỉnh Trà Vinh thông qua. Đề tài này không vi phạm y đức vì các lý do sau:

1. Định lượng HCV-RNA, định kiểu gen HCV và IL28B là cần thiết cho việc quyết định điều trị và theo dõi đáp ứng điều trị nên có thể xem đây là những xét nghiệm thường quy đối với bệnh nhân có Anti-HCV (+). Tất cả các chi phí xét nghiệm sinh học phân tử đều được miễn phí từ nguồn kinh phí do tỉnh Trà Vinh hỗ trợ và từ cá nhân nghiên cứu sinh.

2. Việc lấy máu bệnh nhân xét nghiệm được tư vấn trước và nhận được sự đồng thuận của bệnh nhân khi tham gia nghiên cứu. Bệnh nhân hiểu rõ mẫu máu của mình được sử dụng để làm các xét nghiệm phục vụ cho việc điều trị và nghiên cứu khoa học.

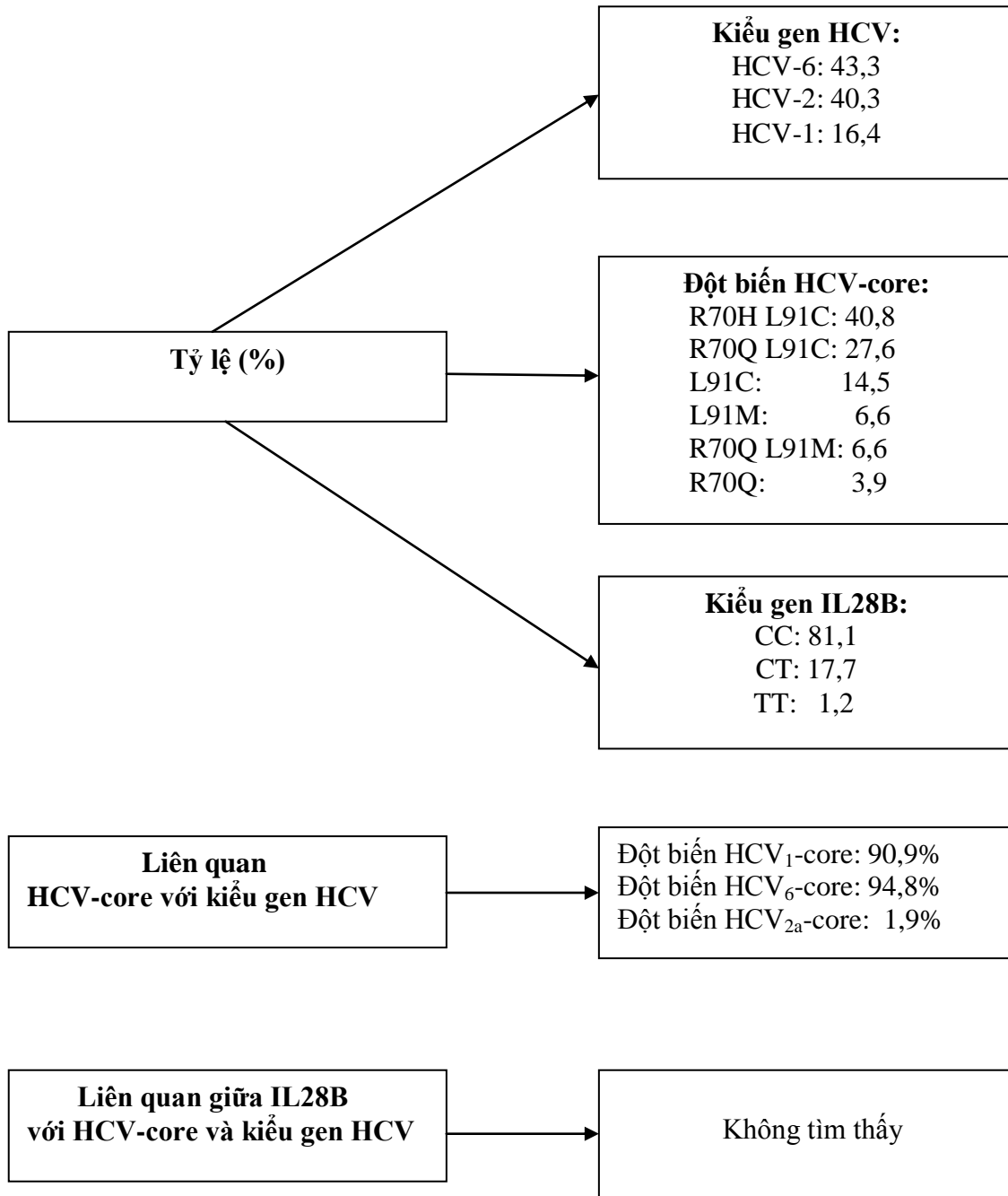
3. Mẫu máu được bảo quản cẩn thận trước và trong quá trình xét nghiệm. Sau khi đã hoàn thành các xét nghiệm, mẫu máu được tiêu hủy theo quy định.

2.11. CÁC LỢI ÍCH MONG ĐỢI TỪ NGHIÊN CỨU

1. Tìm mối liên quan giữa IL28B với kiểu gen HCV và đột biến vùng core HCV. Từ đó có thể áp dụng vào việc điều trị và theo dõi bệnh nhân viêm gan virút C mạn tính.

2. Là nghiên cứu đầu tiên tại Tỉnh Trà Vinh về đột biến vùng core HCV và khảo sát phân bố tỷ lệ kiểu gen IL28B ở những người có Anti-HCV (+) và HCV-RNA (-) (có khả năng đã đào thải HCV tự nhiên). Kết quả nghiên cứu sẽ cung cấp các dữ liệu về kiểu gen IL28B, kiểu gen HCV và đột biến vùng core HCV, có ích cho các nghiên cứu về viêm gan virút C.

Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

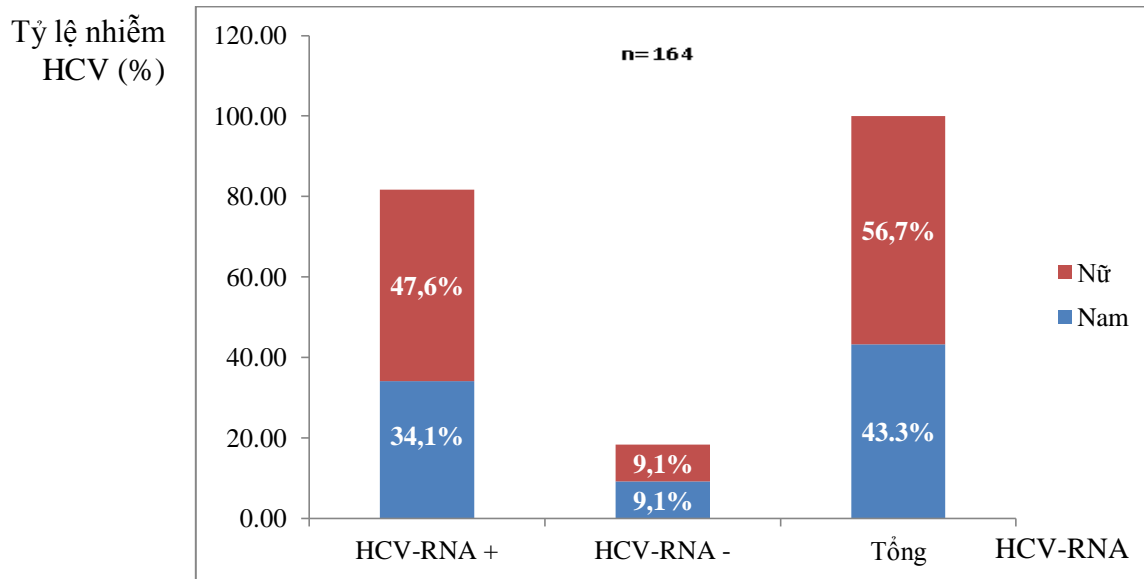


Sơ đồ 3.1. Tóm tắt các kết quả nghiên cứu

Trong nghiên cứu của chúng tôi có 164 bệnh nhân nhiễm HCV, trong đó 30 bệnh nhân không phát hiện được RNA của virút và 134 bệnh nhân phát hiện số lượng RNA của virút bằng kỹ thuật real time PCR.

3.1. MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM MẪU NGHIÊN CỨU, n=164

3.1.1 Giới tính



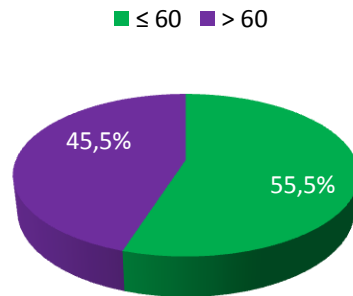
Biểu đồ 3.1. Phân bố giới trong mẫu nghiên cứu

Phân tích dịch tễ học về giới tính ghi nhận nam có 71 trường hợp, chiếm tỷ lệ 43,3%, nữ có 93 trường hợp, chiếm tỷ lệ 56,7%.

Xét nhóm bệnh nhân có HCV-RNA (+): nữ có 78 trường hợp (47,6%), nam có 56 trường hợp (34,1%).

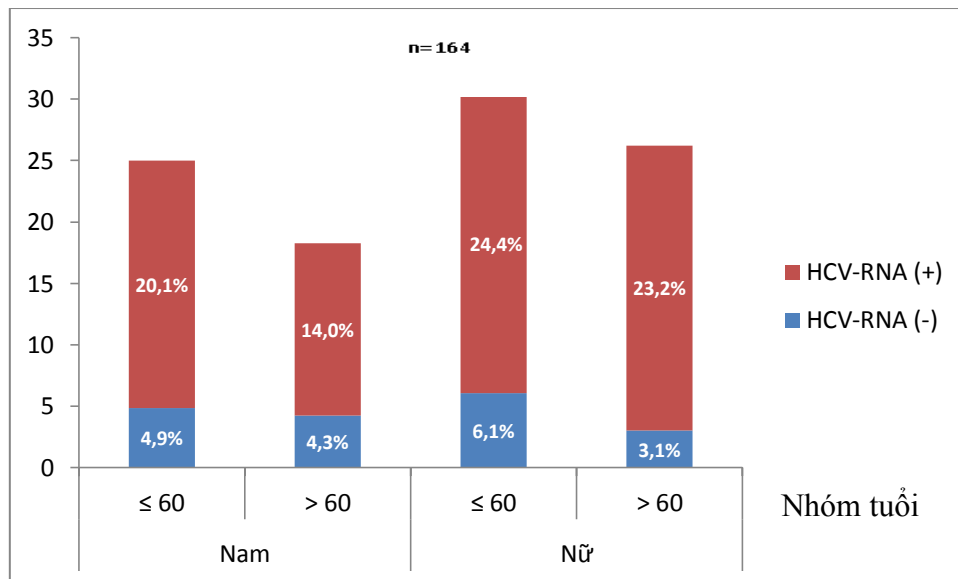
Xét nhóm bệnh nhân có HCV-RNA (-): nữ có 15 trường hợp (9,1%), nam có 15 trường hợp (9,1%).

3.1.2. Tuổi



Biểu đồ 3.2. Phân bố tuổi trong mẫu nghiên cứu

Tỷ lệ nhiễm HCV (%)



Biểu đồ 3.3. Phân bố tuổi theo giới trong mẫu nghiên cứu

Phân tích theo tuổi ghi nhận được bệnh nhân nhỏ nhất là 26 tuổi, bệnh nhân lớn tuổi nhất là 95 tuổi, tuổi trung bình là $58,7 \pm 11,7$. Trong đó, tuổi trung bình ở nam là $57,6 \pm 12,0$ và tuổi trung bình ở nữ là $59,5 \pm 11,4$. Nhóm tuổi ≤ 60 tuổi chiếm tỷ lệ cao hơn với 91 trường hợp, chiếm 55,5%, nhóm tuổi > 60 tuổi chiếm 44,5% với 73 trường hợp.

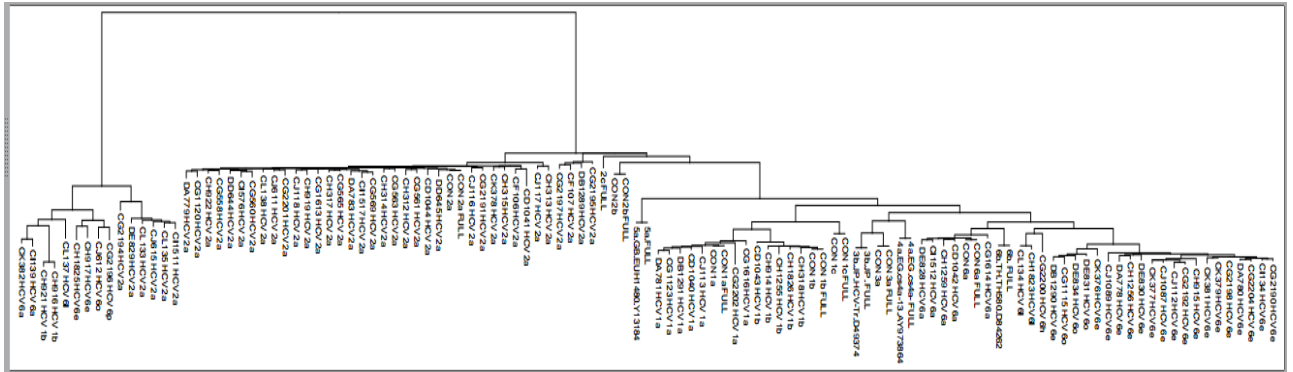
3.2. TỶ LỆ CÁC KIỂU GEN HCV, CÁC ĐỘT BIẾN VÙNG CORE HCV VÀ CÁC KIỂU GEN SNP rs12979860 CỦA IL28B

3.2.1. Tỷ lệ các kiểu gen HCV trong nhóm bệnh nhân có HCV-RNA (+)

Bảng 3.1. Tỷ lệ kiểu gen HCV của 134 bệnh nhân có HCV-RNA (+) (n=134)

Kiểu gen HCV	n	Tổng	Tỷ lệ (%)	
1a	7	22	16,4	5,2
1b	15			11,2
2a	54	54	40,3	
6a	16	58	43,3	11,9
6e	30			22,4
6h	1			0,8
6l	6			4,5
6o	4			2,9
6p	1			0,8
Tổng cộng		134	100	

Trong 134 bệnh nhân có HCV-RNA (+), nhóm bệnh nhân có HCV kiểu gen 6 chiếm tỷ lệ cao nhất 43,3% (58 trường hợp), kế đến là nhóm bệnh nhân có HCV kiểu gen 2a chiếm tỷ lệ 40,3% với 54 trường hợp. Thấp nhất là kiểu gen 1 với 16,4% (22 trường hợp).



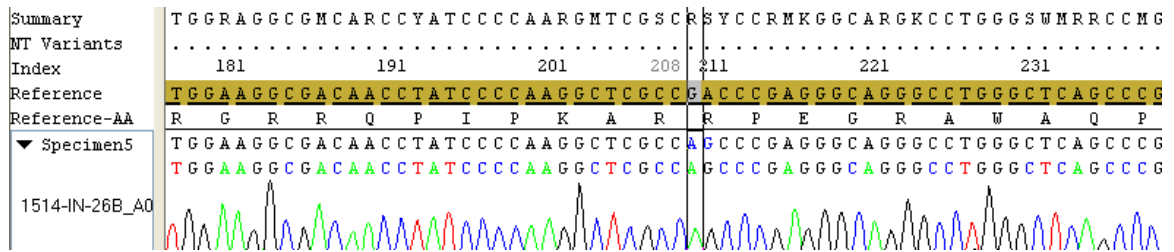
Hình 3.1. Cây phân loài dưới kiểu gen HCV một số mẫu trong nghiên cứu được vẽ bằng phần mềm MEGA 7

3.2.2. Tỷ lệ đột biến vùng core HCV

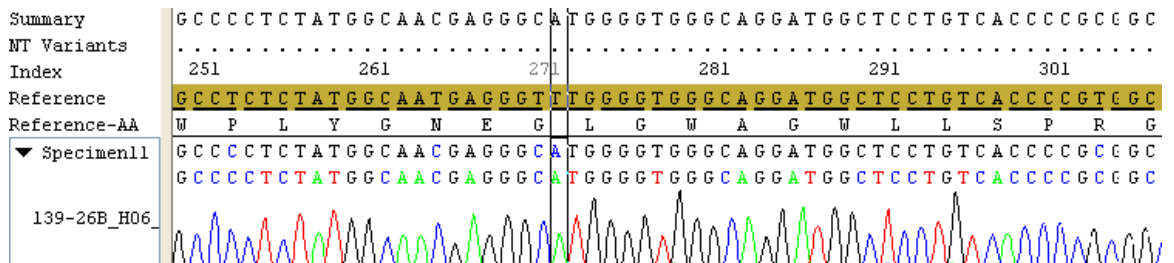
Bảng 3.2. Tỷ lệ đột biến vùng core HCV

Dạng đột biến	n	Tỷ lệ đột biến trong 76 trường hợp có đột biến (%)	Tỷ lệ đột biến trong 134 trường hợp khảo sát (%)
L91C	11	14,5	8,2
L91M	5	6,6	3,7
R70H L91C	31	40,8	23,1
R70Q	3	3,9	2,2
R70Q L91C	21	27,6	15,7
R70Q L91M	5	6,6	3,7
	76	100	56,7

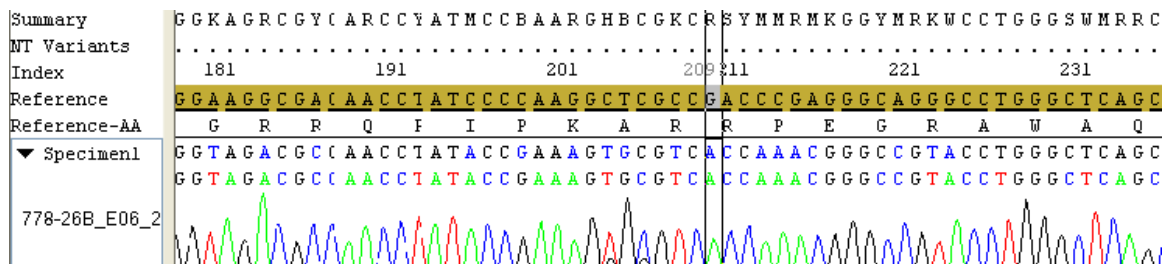
Có 76 bệnh nhân có đột biến vùng core HCV, chiếm tỷ lệ 56,7% (76/134). Tần số và tỷ lệ các dạng đột biến vùng core HCV được trình bày trong bảng 3.2.



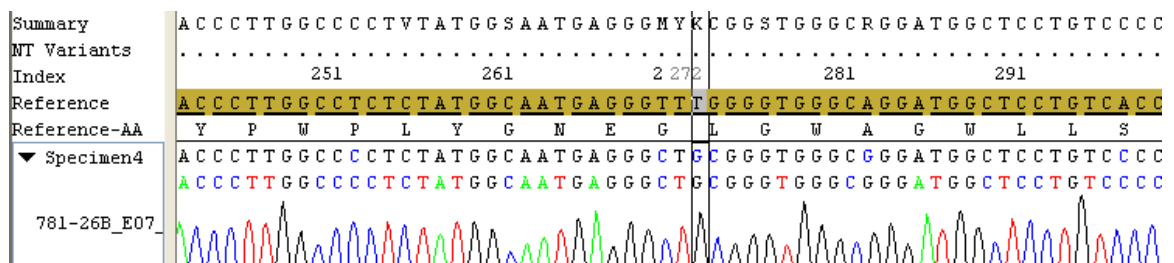
Hình 3.2. Đột biến R70Q



Hình 3.3. Đột biến L91M



Hình 3.4. Đột biến R70H



Hình 3.5. Đột biến L91C

Bảng 3.3. Tần suất đột biến vùng core HCV theo giới và tuổi, ở nhóm bệnh nhân có HCV-RNA (+) (n=134)

Đột biến vùng core Giới tính, Tuổi	Không n (%)	Có n (%)	Tổng (n)	OR (KTC 95%)	p
Nữ	40 (51,3%)	38 (48,7%)	78	0,45 (0,220-0,920)	0,04
Nam	18 (32,1%)	38 (67,9%)	56		
Tổng (n)	58	76	134		
<p>Khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê với $p = 0,04 < 0,05$ (chi bình phương test). Đột biến vùng core HCV chủ yếu xảy ra ở phái nam.</p>					
≤ 60	24 (32,9%)	49 (67,1%)	73	2,571 (1,273-5,191)	0,01
> 60	34 (55,7%)	27 (44,3%)	61		
Tổng (n)	58	76	134		
<p>Khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê, $p = 0,01 < 0,05$ (chi bình phương test). Đột biến vùng core HCV chủ yếu xảy ra ở những bệnh nhân ≤ 60 tuổi.</p>					

Bảng 3.4. Tần suất đột biến vùng core HCV theo tuổi, ở nhóm bệnh nhân nam và nữ, có HCV-RNA (+) (n=134)

Đột biến vùng core Tuổi	Không n (%)	Có n (%)	Tổng (n)	OR KTC 95%	p
Nam					
≤ 60	8 (24,2%)	25 (75,8%)	33	2,404 (0,764-7,562)	0,22
> 60	10 (43,5%)	13 (56,5%)	23		
Tổng (n)	18	38	56		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,22 > 0,05$ (chi bình phương test)					
Nữ					
≤ 60	16 (40,0%)	24 (60,0%)	40	2,571 (1,031-6,411)	0,06
> 60	24 (63,2%)	14 (36,8%)	38		
Tổng (n)	40	38	78		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,06 > 0,05$ (chi bình phương test)					

Bảng 3.5. Tải lượng HCV-RNA của hai nhóm bệnh nhân viêm gan C mạn tính có đột biến và không đột biến vùng core HCV (n=134)

HCV core	n	Trung vị tải lượng	Trung bình tải lượng
Đột biến	76	$5,8 \times 10^6$ IU/ml	$14,9 \pm 27,8 \times 10^6$ IU/ml
Không đột biến	58	$1,9 \times 10^6$ IU/ml	$11,6 \pm 29,6 \times 10^6$ IU/ml
	134	$p = 0,1 > 0,05$ (Mann Whitney test)	

Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$.

Bảng 3.6. Tải lượng HCV-RNA theo tuổi, có đột biến và không có đột biến vùng core HCV

	n	Trung vị tải lượng	Trung bình tải lượng
Đột biến vùng core HCV			
≤ 60 tuổi	49	$3,1 \times 10^6$ IU/ml	$16,6 \pm 32,3 \times 10^6$ IU/ml
> 60 tuổi	27	$9,2 \times 10^6$ IU/ml	$11,9 \pm 17,1 \times 10^6$ IU/ml
	76	$p = 0,56 > 0,05$ (Mann Whitney test)	
Không đột biến vùng core HCV			
≤ 60 tuổi	24	$2,6 \times 10^6$ IU/ml	$13,8 \pm 35,5 \times 10^6$ IU/ml
> 60 tuổi	34	$1,7 \times 10^6$ IU/ml	$10,1 \pm 25,0 \times 10^6$ IU/ml
	58	$p = 0,35 > 0,05$ (Mann Whitney test)	
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$.			

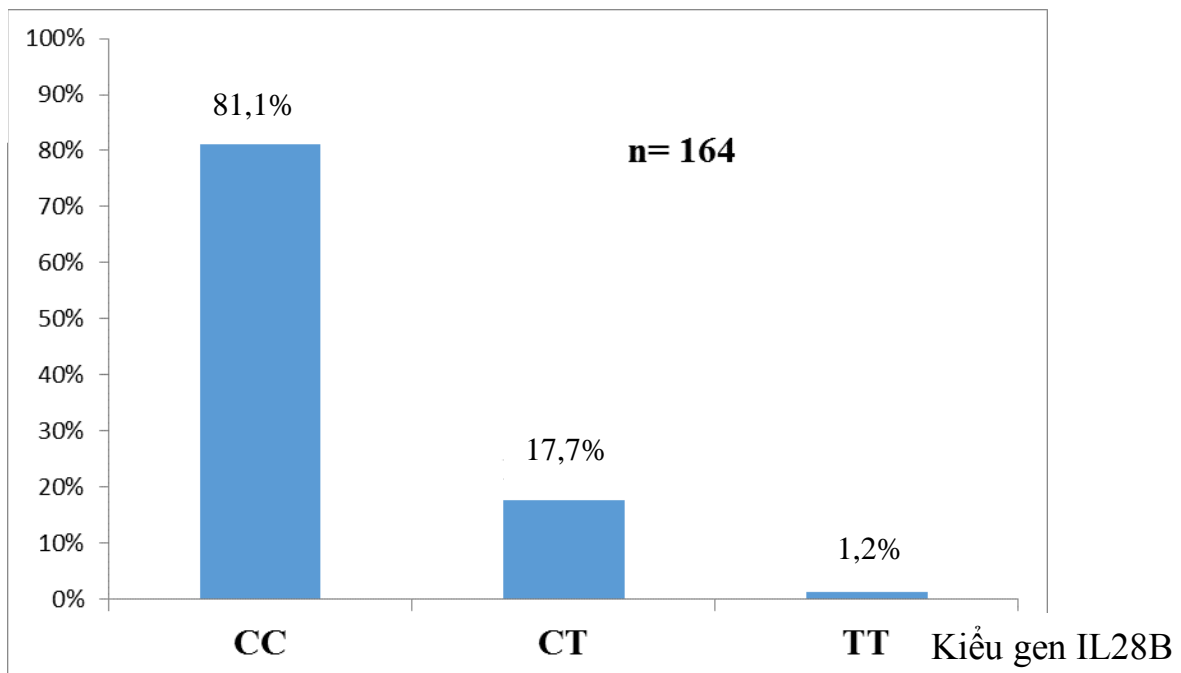
Bảng 3.7. Tải lượng HCV-RNA theo giới, có đột biến và không có đột biến vùng core HCV

	n	Trung vị tải lượng	Trung bình tải lượng
Đột biến vùng core HCV			
Nam	38	$1,9 \times 10^6$ IU/ml	$14,7 \pm 33,1 \times 10^6$ IU/ml
Nữ	38	$7,7 \times 10^6$ IU/ml	$15,2 \pm 21,8 \times 10^6$ IU/ml
	76	$p = 0,11 > 0,05$ (Mann Whitney test)	
Không có đột biến vùng core HCV			
Nam	18	$1,9 \times 10^6$ IU/ml	$16,9 \pm 41,4 \times 10^6$ IU/ml
Nữ	40	$1,9 \times 10^6$ IU/ml	$9,2 \pm 22,7 \times 10^6$ IU/ml
	58	$p = 0,53 > 0,05$ (Mann Whitney test)	
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$			

3.2.3. Tỷ lệ các kiểu gen SNP rs12979860 của IL28B

3.2.3.1. Khảo sát nhóm bệnh nhân có Anti-HCV (+) (n=164)

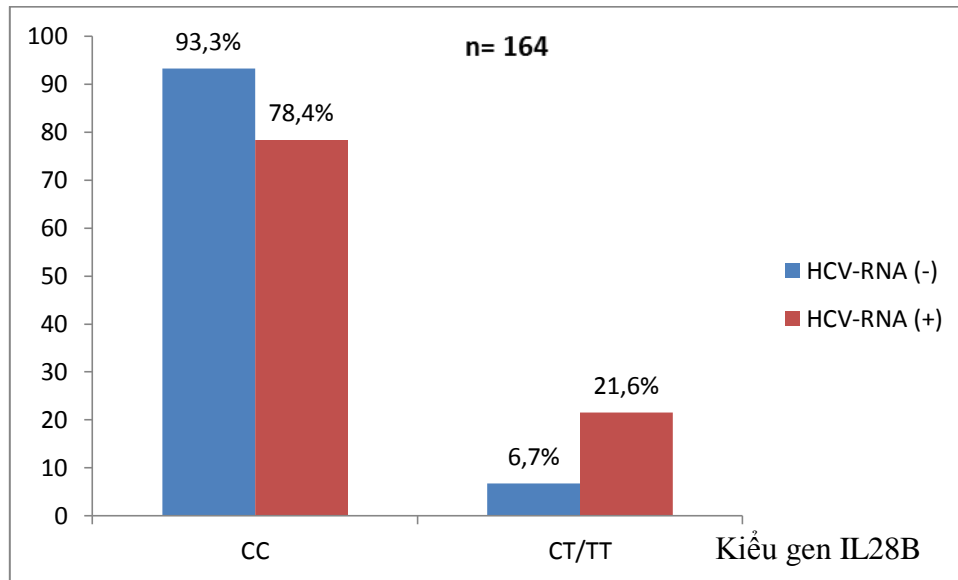
Tỷ lệ
nhiễm
HCV
(%)



Biểu đồ 3.4. Tỷ lệ kiểu gen IL28B ở bệnh nhân nhiễm HCV

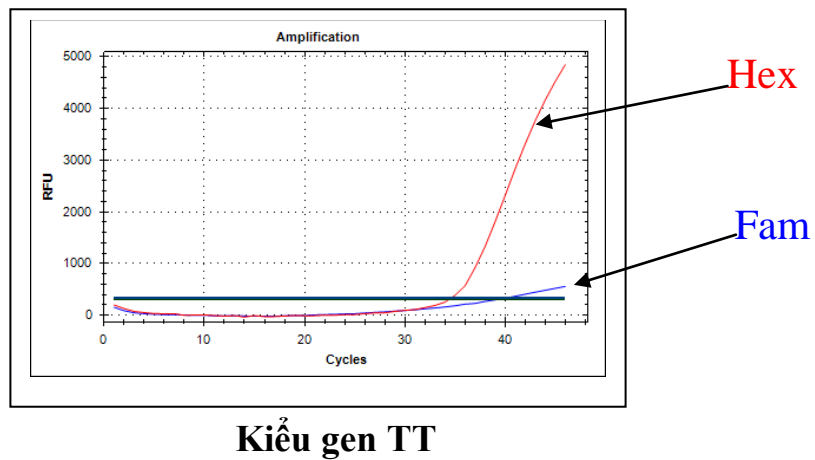
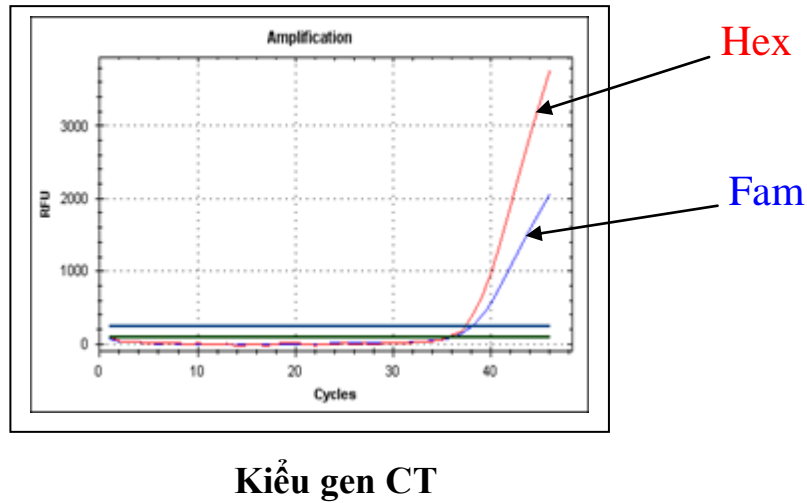
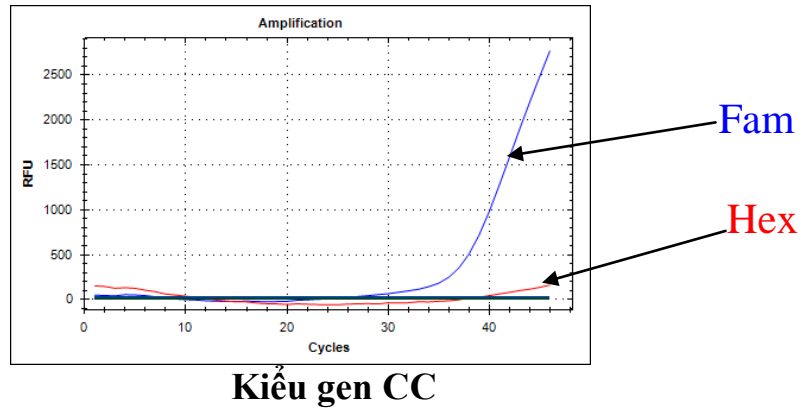
Bệnh nhân nhiễm HCV có IL28B kiểu gen CC chiếm tỷ lệ cao nhất (81,1%) so với hai nhóm kiểu gen còn lại.

Tỷ lệ nhiễm
HCV (%)



Biểu đồ 3.5. Tỷ lệ kiểu gen IL28B ở nhóm bệnh nhân nhiễm HCV có HCV-RNA (+) và HCV-RNA (-)

Khác biệt về tỷ lệ kiểu gen IL28B giữa hai nhóm HCV-RNA (+) và HCV-RNA (-) không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,1 > 0,05$ (chi bình phương test), (OR = 0,259; KTC 95%: 0,058-1,150).



Hình 3.6. Kết quả kiểu gen IL28B

Bảng 3.8. Tỷ lệ kiểu gen IL28B ở nhóm bệnh nhân có Anti-HCV (+) theo giới và tuổi

	Kiểu gen CT, TT n (%)	Kiểu gen CC n (%)	Tổng (n)	OR KTC 95%	p
Nữ	19 (20,4%)	74 (79,6%)	93	0,792 (0,356-1,762)	0,71
Nam	12 (16,9%)	59 (83,1%)	71		
Tổng (n)	31	133	164		
<p>Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,71 > 0,05$ (chi bình phương test)</p>					
≤ 60 tuổi	20 (22%)	71 (78%)	91	0,629 (0,280-1,417)	0,36
> 60 tuổi	11 (15,1%)	62 (84,9%)	73		
Tổng (n)	31	133	164		
<p>Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,36 > 0,05$ (chi bình phương test)</p>					

Bảng 3.9. Tỷ lệ kiểu gen IL28B theo tuổi, ở nhóm bệnh nhân nam và nữ, có Anti-HCV (+)

	Kiểu gen CT, TT n (%)	Kiểu gen CC n (%)	Tổng (n)	OR KTC 95%	p
Nam					
≤ 60 tuổi	9 (21,9%)	32 (78,1%)	41	0,395 (0,097-1,608)	0,31
> 60 tuổi	3 (10%)	27 (90%)	30		
Tổng (n)	12	59	71		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,31 > 0,05$ (chi bình phương test)					
Nữ					
≤ 60 tuổi	11 (22%)	39 (78%)	50	0,810 (0,293-2,244)	0,88
> 60 tuổi	8 (18,6%)	35 (81,4%)	43		
Tổng (n)	19	74	93		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,88 > 0,05$ (chi bình phương test)					

3.2.3.2 Khảo sát nhóm bệnh nhân có khả năng đã thanh thải virút (n=30)

Bảng 3.10. Tỷ lệ kiểu gen IL28B theo tuổi và giới, ở nhóm bệnh nhân có Anti-HCV (+), HCV-RNA (-) (n=30)

	Kiểu gen CT, TT n (%)	Kiểu gen CC n (%)	Tổng (n)	OR KTC 95%	p
≤ 60 tuổi	0 (0%)	18 (100%)	18	Không xác định	0,15
> 60 tuổi	2 (16,7%)	10 (83,3%)	12		
Tổng (n)	2	28	30		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,15 > 0,05$ (Fisher's exact test)					
Nữ	1 (6,7%)	14 (93,3%)	15	1,000 (0,057-17,622)	1
Nam	1 (6,7%)	14 (93,3%)	15		
Tổng (n)	2	28	30		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 1 > 0,05$ (Fisher's exact test)					

Bảng 3.11. Tỷ lệ kiểu gen IL28B theo tuổi, ở nhóm bệnh nhân nam và nữ, có Anti-HCV (+), HCV-RNA (-)

	Kiểu gen CT, TT n (%)	Kiểu gen CC n (%)	Tổng (n)	OR KTC 95%	P
Nam					
≤ 60 tuổi	0 (0%)	8 (100%)	8	Không xác định	0,47
> 60 tuổi	1 (14,3%)	6 (85,7%)	7		
Tổng (n)	1	14	15		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,47 > 0,05$ (Fisher's exact test)					
Nữ					
≤ 60 tuổi	0 (0%)	10 (100%)	10	Không xác định	0,33
> 60 tuổi	1 (20%)	4 (80%)	5		
Tổng (n)	1	14	15		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,33 > 0,05$ (Fisher's exact test)					

3.2.3.3 Khảo sát nhóm bệnh nhân chưa thanh thải virút, có HCV-RNA (+) (n=134)

Bảng 3.12. Tỷ lệ kiểu gen IL28B theo tuổi và giới, ở nhóm bệnh nhân có HCV - RNA (+)

	Kiểu gen CT, TT n (%)	Kiểu gen CC n (%)	Tổng (n)	OR KTC 95%	p
≤ 60 tuổi	20 (27,4%)	53 (72,6%)	73	0,459 (0,191-1,100)	0,12
> 60 tuổi	9 (14,8%)	52 (85,2%)	61		
Tổng (n)	29	105	134		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,12 > 0,05$ (chi bình phương test)					
Nữ	18 (23,1%)	60 (76,9%)	78	0,815 (0,350-1,895)	0,79
Nam	11 (19,6%)	45 (80,4%)	56		
Tổng (n)	29	105	134		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,79 > 0,05$ (chi bình phương test)					

Bảng 3.13. Tỷ lệ kiểu gen IL28B theo tuổi, ở nhóm bệnh nhân nam và nữ, có HCV - RNA (+)

	Kiểu gen CT, TT n (%)	Kiểu gen CC n (%)	Tổng (n)	OR KTC 95%	p
Nam					
≤ 60 tuổi	9 (27,3%)	24 (72,7%)	33	0,254 (0,049-1,309)	0,1
> 60 tuổi	2 (8,7%)	21 (91,3%)	23		
Tổng (n)	11	45	56		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,1 > 0,05$ (Fisher's exact test)					
Nữ					
≤ 60 tuổi	11 (27,5%)	29 (72,5%)	40	0,595 (0,203-1,743)	0,49
> 60 tuổi	7 (18,4%)	31 (81,6%)	38		
Tổng (n)	18	60	78		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,49 > 0,05$ (chi bình phương test)					

3.2.3.4. Mối liên quan giữa IL28B với tải lượng HCV-RNA theo tuổi, giới.

Bảng 3.14. Tải lượng HCV-RNA của hai nhóm bệnh nhân viêm gan C mạn tính có IL28B CC và IL28B CT, TT (n=134)

IL28B	n	Trung vị tải lượng	Trung bình tải lượng
Kiểu gen CC	105	$2,3 \times 10^6$ IU/ml	$11,9 \pm 29,5 \times 10^6$ IU/ml
Kiểu gen CT, TT	29	$7,8 \times 10^6$ IU/ml	$19,1 \pm 24,1 \times 10^6$ IU/ml
	134	$p = 0,057 > 0,05$ (Mann Whitney test)	

Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$.

Bảng 3.15. Tải lượng HCV-RNA theo giới và tuổi của bệnh nhân viêm gan C mạn tính (n=134)

	n	Trung vị tải lượng	Trung bình tải lượng
Nam	56	$1,9 \times 10^6$ IU/ml	$15,3 \pm 35,6 \times 10^6$ IU/ml
Nữ	78	$4,0 \times 10^6$ IU/ml	$12,1 \pm 22,3 \times 10^6$ IU/ml
	134	$p = 0,5395 > 0,05$ (Mann Whitney test)	
> 60 tuổi	61	$2,2 \times 10^6$ IU/ml	$10,9 \pm 21,8 \times 10^6$ IU/ml
≤ 60 tuổi	73	$2,6 \times 10^6$ IU/ml	$15,7 \pm 33,2 \times 10^6$ IU/ml
	134	$p = 0,5689 > 0,05$ (Mann Whitney test)	
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$			

Bảng 3.16. Tải lượng HCV-RNA theo tuổi của bệnh nhân nam và nữ viêm gan C mạn tính

	n	Trung vị tải lượng	Trung bình tải lượng
Nam			
> 60 tuổi	23	2,2 x 10 ⁶ IU/ml	10,7 ± 17,3 x 10 ⁶ IU/ml
≤ 60 tuổi	33	1,8 x 10 ⁶ IU/ml	18,6 ± 44,1 x 10 ⁶ IU/ml
	56	p = 0,91 > 0,05 (Mann Whitney test)	
Nữ			
> 60 tuổi	38	3,2 x 10 ⁶ IU/ml	10,9 ± 24,3 x 10 ⁶ IU/ml
≤ 60 tuổi	40	4,0 x 10 ⁶ IU/ml	13,2 ± 20,5 x 10 ⁶ IU/ml
	78	p = 0,44 > 0,05 (Mann Whitney test)	
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, p > 0,05			

Bảng 3.17. Tải lượng HCV-RNA theo giới và tuổi, của bệnh nhân viêm gan C mạn tính, có IL28B CC

	n	Trung vị tải lượng	Trung bình tải lượng
Nam	45	1,5 x 10 ⁶ IU/ml	14,6 ± 38,4 x 10 ⁶ IU/ml
Nữ	60	4,0 x 10 ⁶ IU/ml	9,9 ± 20,7 x 10 ⁶ IU/ml
	105	p = 0,33 > 0,05 (Mann Whitney test)	
Nam			
> 60 tuổi	52	1,9 x 10 ⁶ IU/ml	9,1 ± 20,9 x 10 ⁶ IU/ml
≤ 60 tuổi	53	2,6 x 10 ⁶ IU/ml	14,7 ± 36,1 x 10 ⁶ IU/ml
	105	p = 0,52 > 0,05 (Mann Whitney test)	
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, p > 0,05			

Bảng 3.18. Tải lượng HCV-RNA theo tuổi, của bệnh nhân nam và nữ viêm gan C mạn tính, có IL28B CC

	n	Trung vị tải lượng	Trung bình tải lượng
Nam			
> 60 tuổi	21	1,7 x 10 ⁶ IU/ml	8,6 ± 15,7 x 10 ⁶ IU/ml
≤ 60 tuổi	24	1,4 x 10 ⁶ IU/ml	19,8 ± 50,7 x 10 ⁶ IU/ml
	45	p = 0,87 > 0,05 (Mann Whitney test)	
Nữ			
> 60 tuổi	31	2,0 x 10 ⁶ IU/ml	9,4 ± 24,1 x 10 ⁶ IU/ml
≤ 60 tuổi	29	4,2 x 10 ⁶ IU/ml	10,5 ± 16,8 x 10 ⁶ IU/ml
	60	p = 0,37 > 0,05 (Mann Whitney test)	
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, p > 0,05			

Bảng 3.19. Tải lượng HCV-RNA theo giới và tuổi của bệnh nhân viêm gan C mạn tính, có IL28B CT, TT

	n	Trung vị tải lượng	Trung bình tải lượng
Nam	11	14,8 x 10 ⁶ IU/ml	18,7 ± 21,3 x 10 ⁶ IU/ml
Nữ	18	5,2 x 10 ⁶ IU/ml	19,3 ± 26,3 x 10 ⁶ IU/ml
	29	p = 0,7 > 0,05 (Mann Whitney test)	
> 60 tuổi	9	13,1 x 10 ⁶ IU/ml	21,2 ± 24,7 x 10 ⁶ IU/ml
≤ 60 tuổi	20	2,9 x 10 ⁶ IU/ml	18,2 ± 24,4 x 10 ⁶ IU/ml
	29	p = 0,57 > 0,05 (Mann Whitney test)	
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, p > 0,05			

3.3. MỐI LIÊN QUAN GIỮA ĐỘT BIẾN VÙNG CORE HCV VỚI CÁC KIỂU GEN HCV

Bảng 3.20. Tần suất các dạng đột biến vùng core HCV theo kiểu gen HCV

Dạng đột biến Kiểu gen HCV	L91C		R70H L91C		R70Q L91C		Tổng
	L91C	L91M	R70H L91C	R70Q	R70Q L91C	R70Q L91M	
1a	7 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	7
1b	0 (0%)	5 (38,5%)	0 (0%)	3 (23,1%)	0 (0%)	5 (38,5%)	13
2a	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1
6	3 (5,5%)	0 (0%)	31 (56,4%)	0 (0%)	21 (38,2%)	0 (0%)	55
Tổng	11 (14,5%)	5 (6,6%)	31 (40,8%)	3 (3,9%)	21 (27,6%)	5 (6,6%)	76

Khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,0001$ (Fisher's exact test). Kiểu gen 6 có tỷ lệ đột biến vùng core cao nhất 72,4% (55/76) kế đến là kiểu gen 1b chiếm tỷ lệ 17,1% (13/76) trong khi kiểu gen 2a có đột biến vùng core chiếm tỷ lệ thấp nhất là 1,3% (1/76) và kiểu gen 1a chiếm 9,2% (7/76). Đột biến vùng core dạng R70H L91C chiếm tỷ lệ cao nhất 40,8% (31 trường hợp), kế đến là đột biến dạng R70Q L91C và L91C có tỷ lệ 27,6% (21 trường hợp) và 14,5% (11 trường hợp). Hai dạng đột biến L91M và R70Q L91M đều có tỷ lệ 6,6% (5 trường hợp). Chiếm tỷ lệ thấp nhất là dạng đột biến R70Q, 3,9% (3 trường hợp).

Bảng 3.21. Tần suất đột biến vùng core HCV theo kiểu gen HCV, ở nhóm bệnh nhân có HCV-RNA (+) (n=134)

Đột biến vùng core Kiểu gen HCV	Không n (%)	Có n (%)	Tổng (n)	PR KTC 95%	p
1	2 (9,1%)	20 (90,9%)	22	47,8 (0,764-0,102)	0,0001
2a	53 (98,1%)	1 (1,9%)	54		
6	3 (5,2%)	55 (94,8%)	58	49,9 (0,861-0,997)	
Tổng (n)	58	76	134		

Khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê với $p = 0,0001 < 0,05$ (chi bình phương test). Đột biến vùng core HCV chủ yếu xảy ra ở những bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1 và HCV kiểu gen 6.

Bảng 3.22. Tần suất đột biến vùng core HCV theo kiểu gen HCV, ở nhóm bệnh nhân có IL28B CC và IL28B CT, TT

Đột biến vùng core Kiểu gen HCV	Không n (%)	Có n (%)	Tổng (n)	PR KTC 95%	p
IL28B CC					
1	2 (13,3%)	13 (86,7%)	15	37,7 (0,667-1,021)	0,0001
2a	43 (97,7%)	1 (2,3%)	44		
6	2 (4,3%)	44 (95,7%)	46	41,6 (0,861-1,007)	
Tổng (n)	47	58	105		
<p>Khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê, $p = 0,0001 < 0,05$ (chi bình phương test). Đột biến vùng core HCV chủ yếu xảy ra ở những bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1 và HCV kiểu gen 6</p>					
IL28B CT, TT					
1	0 (0%)	7 (100%)	7	Không xác định	0,0001
2a	10 (100%)	0 (0%)	10		
6	1 (8,3%)	11 (91,7%)	12		
Tổng (n)	11	18	29		
<p>Khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê, $p = 0,0001 < 0,05$ (Fisher's exact test). Đột biến vùng core HCV chủ yếu xảy ra ở những bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1 và HCV kiểu gen 6</p>					

3.4. MỐI LIÊN QUAN GIỮA CÁC KIỂU GEN SNP rs12979860 CỦA IL28B VỚI CÁC KIỂU GEN HCV VÀ ĐỘT BIẾN VÙNG CORE HCV

Bảng 3.23. Tỷ lệ SNP rs12979860 của IL28B theo kiểu gen HCV, ở nhóm bệnh nhân có HCV- RNA (+) (n=134)

Kiểu gen HCV	IL28B CC n (%)	IL28B CT, TT n (%)	Tổng cộng n (%)
1	15 (68,2%)	7 (31,8%)	22
2a	44 (81,5%)	10 (18,5%)	54
6	46 (79,3%)	12 (20,7%)	58
	105	29	134

Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,43 > 0,05$ (chi bình phương test).

Bảng 3.24. Tỷ lệ kiểu gen HCV theo tuổi và giới, ở nhóm bệnh nhân có IL28B CC (n=105)

	1 n (%)	2a n (%)	6 n (%)	Tổng (n)	PR KTC 95%
≤ 60 tuổi	9 (16,9%)	16 (30,2%)	28 (52,9%)	53	1,78 (0,055-0,417)
> 60 tuổi	6 (11,5%)	28 (53,8%)	18 (34,7%)	52	
Tổng (n)	15	44	46	105	
<p>Khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê, $p = 0,048 < 0,05$ (chi bình phương test). Những bệnh nhân > 60 tuổi chủ yếu nhiễm HCV kiểu gen 2a</p>					
Nữ	7 (11,7%)	30 (50%)	23 (38,3%)	60	
Nam	8 (17,8%)	14 (31,1%)	23 (51,1%)	45	
Tổng (n)	15	44	46	105	
<p>Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê $p = 0,14 > 0,05$ (chi bình phương test)</p>					

Bảng 3.25. Tỷ lệ kiểu gen HCV theo tuổi, ở nhóm bệnh nhân nam và nữ, có IL28B CC

	1 n (%)	2a n (%)	6 n (%)	Tổng (n)	PR KTC 95%
Nam					
≤ 60 tuổi	6 (25%)	6 (25%)	12 (50%)	24	
> 60 tuổi	2 (9,5%)	8 (38%)	11 (52,5%)	21	
Tổng (n)	8	14	23	45	
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, p = 0,34 > 0,05 (Fisher's exact test)					
Nữ					
≤ 60 tuổi	3 (10,3%)	10 (34,5%)	16 (55,2%)	29	2,44 (0,093-0,559)
> 60 tuổi	4 (12,9%)	20 (64,5%)	7 (22,6%)	31	1,87 (0,059-0,541)
Tổng (n)	7	30	23	60	
Khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê, p = 0,03 < 0,05 (Fisher's exact test):					
* Những bệnh nhân ≤ 60 tuổi chủ yếu nhiễm HCV kiểu gen 6					
* Những bệnh nhân > 60 tuổi chủ yếu nhiễm HCV kiểu gen 2a					

Bảng 3.26. Tải lượng HCV-RNA theo IL28B, của nhóm bệnh nhân viêm gan C mạn tính thuộc kiểu gen 1, 2a và 6

	n	Trung vị tải lượng	Trung bình tải lượng
HCV kiểu gen 1			
Kiểu gen CC	15	$3,9 \times 10^6$ IU/ml	$6,1 \pm 6,7 \times 10^6$ IU/ml
Kiểu gen CT, TT	7	$2,6 \times 10^6$ IU/ml	$6,8 \pm 7,4 \times 10^6$ IU/ml
	22	$p = 0,8 > 0,05$ (Mann Whitney test)	
HCV kiểu gen 2a			
Kiểu gen CC	44	$1,4 \times 10^6$ IU/ml	$10,9 \pm 32,8 \times 10^6$ IU/ml
Kiểu gen CT, TT	10	$1,2 \times 10^6$ IU/ml	$17,4 \pm 19,0 \times 10^6$ IU/ml
	54	$p = 0,06 > 0,05$ (Mann Whitney test)	
HCV kiểu gen 6			
Kiểu gen CC	46	$6,6 \times 10^6$ IU/ml	$11,9 \pm 31,0 \times 10^6$ IU/ml
Kiểu gen CT, TT	12	$9,9 \times 10^6$ IU/ml	$27,7 \pm 31,2 \times 10^6$ IU/ml
	58	$p = 0,27 > 0,05$ (Mann Whitney test)	

Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$.

Bảng 3.27. Tải lượng HCV-RNA của ba nhóm bệnh nhân viêm gan C mạn tính thuộc kiểu gen 1, 2a, 6, có IL28B CC

	n	Trung vị tải lượng	Trung bình tải lượng
Kiểu gen 1	15	$3,9 \times 10^6$ IU/ml	$6,1 \pm 6,7 \times 10^6$ IU/ml
Kiểu gen 2a	44	$1,4 \times 10^6$ IU/ml	$10,0 \pm 32,8 \times 10^6$ IU/ml
Kiểu gen 6	46	$6,6 \times 10^6$ IU/ml	$14,8 \pm 31,0 \times 10^6$ IU/ml
	105	Mann Whitney test	

Khác biệt giữa các nhóm kiểu gen 1 và 6 không có ý nghĩa thống kê,

$$p = 0,43 > 0,05.$$

Khác biệt giữa nhóm kiểu gen 1 và 2a không có ý nghĩa thống kê,

$$p = 0,19 > 0,05.$$

Khác biệt giữa nhóm kiểu gen 2a và kiểu gen 6 có ý nghĩa thống kê,

$$p = 0,01 < 0,05:$$

Đối với những bệnh nhân mang kiểu gen IL28B CC, tải lượng HCV-RNA ở kiểu gen 6 nhiều hơn tải lượng HCV-RNA ở kiểu gen 2a.

Bảng 3.28. Tỷ lệ IL28B theo giới và tuổi, ở nhóm bệnh nhân có HCV kiểu gen 1, 2a và 6

	Kiểu gen CT, TT n (%)	Kiểu gen CC n (%)	Tổng (n)	OR KTC 95%	p
HCV kiểu gen 1					
Nữ	3 (30%)	7 (70%)	10	1,167 (0,191-7,117)	1
Nam	4 (33,3%)	8 (66,7%)	12		
Tổng (n)	7	15	22		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 1 > 0,05$ (Fisher's exact test)					
≤ 60 tuổi	4 (30,8%)	9 (69,2%)	13	1,125 (0,183-6,935)	1
> 60 tuổi	3 (33,3%)	6 (66,7%)	9		
	7	15	22		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 1 > 0,05$ (Fisher's exact test)					
HCV kiểu gen 2a					
Nữ	9 (23,1%)	30 (76,9%)	39	0,238 (0,027-2,067)	0,25
Nam	1 (6,7%)	14 (93,3%)	15		
Tổng (n)	10	44	54		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,25 > 0,05$ (Fisher's exact test)					
≤ 60 tuổi	6 (27,3%)	16 (72,7%)	22	0,381 (0,093-1,555)	0,28
> 60 tuổi	4 (12,5%)	28 (87,5%)	32		
Tổng (n)	10	44	54		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,28 > 0,05$ (Fisher's exact test)					

	Kiểu gen CT, TT n (%)	Kiểu gen CC n (%)	Tổng (n)	OR KTC 95%	p
HCV kiểu gen 6					
Nữ	6 (20,7%)	23 (79,3%)	29	1,000 (0,281-3,563)	1
Nam	6 (20,7%)	23 (79,3%)	29		
Tổng (n)	12	46	58		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 1 > 0,05$ (chi bình phương test)					
≤ 60 tuổi	10 (26,3%)	28 (73,7%)	38	0,311 (0,061-1,587)	0,18
> 60 tuổi	2 (10%)	18 (90%)	20		
Tổng (n)	12	46	58		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê $p = 0,18 > 0,05$ (Fisher's exact test)					

Bảng 3.29. Tần suất IL28B theo đột biến vùng core HCV, ở nhóm bệnh nhân có HCV-RNA (+) (n=134)

IL28B Đột biến vùng core	CT, TT n (%)	CC n (%)	Tổng (n)	OR KTC 95%	p
Không	11 (19%)	47 (81%)	58	0,754 (0,325-1,752)	0,65
Có	18 (23,7%)	58 (76,3%)	76		
Tổng	29	105	134		

Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,65 > 0,05$ (chi bình phương test).

Bảng 3.30. Tỷ lệ đột biến vùng core HCV theo tuổi và giới, của hai nhóm bệnh nhân mang kiểu gen IL28B CC và IL28B CT, TT

	Không đột biến n (%)	Đột biến n (%)	Tổng (n)	OR KTC 95%	p
IL28B CC					
≤ 60 tuổi	17 (32,1%)	36 (67,9%)	53	2,888 (1,301-6,408)	0,04
> 60 tuổi	30 (57,7%)	22 (42,3%)	52		
Tổng (n)	47	58	105		
Khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê, $p = 0,04 < 0,05$ (chi bình phương test). Ở những bệnh nhân mang kiểu gen IL28B CC, đột biến vùng core HCV chủ yếu xảy ra ở những người ≤ 60 tuổi.					
Nữ	31 (51,7%)	29 (48,3%)	60	0,516 (0,234-1,141)	0,14
Nam	16 (35,6%)	29 (64,4%)	45		
Tổng (n)	47	58	105		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,14 > 0,05$ (chi bình phương test)					
IL28B CT, TT					
≤ 60 tuổi	7 (35%)	13 (65%)	20	1,486 (0,299-7,389)	0,69
> 60 tuổi	4 (44,4%)	5 (55,6%)	9		
Tổng (n)	11	18	29		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,69 > 0,05$ (Fisher's exact test)					
Nữ	9 (50%)	9 (50%)	18	0,222 (0,037-1,330)	0,12
Nam	2 (18,2%)	9 (81,8%)	11		
Tổng (n)	11	18	29		
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,12 > 0,05$ (Fisher's exact test)					

Bảng 3.31. Tải lượng HCV-RNA theo đột biến vùng core HCV, có IL28B CC và IL28B CT, TT

	n	Trung vị tải lượng	Trung bình tải lượng
IL28B CC			
Đột biến	58	$5,8 \times 10^6$ IU/ml	$13 \pm 28 \times 10^6$ IU/ml
Không đột biến	47	$1,7 \times 10^6$ IU/ml	$10,6 \pm 31,6 \times 10^6$ IU/ml
	105	$p = 0,053 > 0,05$ (Mann Whitney test)	
IL28B CT, TT			
Đột biến	18	$8,1 \times 10^6$ IU/ml	$21,1 \pm 27,2 \times 10^6$ IU/ml
Không đột biến	11	$7,8 \times 10^6$ IU/ml	$15,9 \pm 18,7 \times 10^6$ IU/ml
	29	$p = 0,8 > 0,05$ (Mann Whitney test)	
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$.			

Bảng 3.32. Tải lượng HCV-RNA theo IL28B, thuộc kiểu gen 1 và 6, có đột biến vùng core HCV

	n	Trung vị tải lượng	Trung bình tải lượng
HCV kiểu gen 1			
Kiểu gen CT, TT	7	$2,6 \times 10^6$ IU/ml	$6,8 \pm 7,4 \times 10^6$ IU/ml
Kiểu gen CC	13	$3,0 \times 10^6$ IU/ml	$5,9 \pm 7,1 \times 10^6$ IU/ml
	20	$p = 0,72 > 0,05$ (Mann Whitney test)	
HCV kiểu gen 6			
Kiểu gen CT, TT	11	$16,7 \times 10^6$ IU/ml	$30,1 \pm 31,5 \times 10^6$ IU/ml
Kiểu gen CC	44	$6,9 \times 10^6$ IU/ml	$15,3 \pm 31,6 \times 10^6$ IU/ml
	55	$p = 0,17 > 0,05$ (Mann Whitney test)	
Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$			

Chương 4: BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu của chúng tôi có 164 bệnh nhân nhiễm HCV, trong đó 30 bệnh nhân không phát hiện được RNA của virút và 134 bệnh nhân phát hiện số lượng RNA của virút bằng kỹ thuật real time PCR.

4.1. MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM MẪU NGHIÊN CỨU (n=164)

4.1.1 Giới tính

Biểu đồ 3.1 phân tích dịch tễ học về giới tính bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu ghi nhận được nam có 71 trường hợp, chiếm tỷ lệ 43,3%, nữ có 93 trường hợp, chiếm tỷ lệ 56,7%. Tỷ lệ nữ/nam = 1,31. Xét riêng nhóm bệnh nhân có HCV-RNA (+): nữ có 78 trường hợp (47,6%), nam có 56 trường hợp (34,1%). Tỷ lệ nữ/nam = 1,39. Xét riêng nhóm bệnh nhân có HCV-RNA (-): nữ có 15 trường hợp (9,1%), nam có 15 trường hợp (9,1%). Tỷ lệ nữ/nam = 1.

Kết quả thu thập được có tỷ lệ nữ nhiều hơn nam, tương tự với kết quả nghiên cứu năm 2010 của Trần Hữu Bích và cộng sự trong nhóm nhiễm HCV [2].

4.1.2. Tuổi

Phân tích theo tuổi ở biểu đồ 3.2, ghi nhận được bệnh nhân nhỏ nhất là 26 tuổi, bệnh nhân lớn tuổi nhất là 95 tuổi, tuổi trung bình là $58,7 \pm 11,7$. Trong đó, tuổi trung bình ở nam là $57,6 \pm 12,0$ và tuổi trung bình ở nữ là $59,5 \pm 11,4$. Nhóm tuổi ≤ 60 tuổi có tỷ lệ cao hơn với 91 trường hợp, chiếm 55,5%, nhóm tuổi > 60 tuổi chiếm 44,5% với 73 trường hợp. Xét nhóm tuổi theo phái của những bệnh nhân có HCV-RNA (+) và HCV-RNA (-) vẫn cho thấy nhóm tuổi ≤ 60 chiếm ưu thế. Kết quả thu thập được khác với kết quả nghiên cứu năm 2010 của Trần Hữu Bích và cộng sự, đối với các bệnh nhân có Anti-HCV (+), sự khác biệt giữa các nhóm tuổi không đáng kể [2], khác với kết quả của Phạm Thị Thu Thủy và Hồ Tấn Đạt [17], và cũng khác với nghiên cứu của Cao Minh Nga [9]. Nhìn chung, bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi có

độ tuổi lớn hơn các nghiên cứu trên, có thể do cỡ mẫu của nghiên cứu này không đủ lớn. Hơn nữa, thực tế ở Việt Nam nói chung và ở tỉnh Trà Vinh nói riêng do ý thức khám chữa bệnh chưa cao nên đa số bệnh nhân phát hiện bệnh ở tuổi trưởng thành hoặc lớn, trên nền bệnh viêm gan virút C diễn biến âm thầm, kéo dài. Việc tầm soát bệnh của người dân thường xuất hiện ở giai đoạn muộn của tuổi đời cũng như là thời kỳ của bệnh.

4.2. TỶ LỆ CÁC KIỂU GEN HCV, CÁC ĐỘT BIẾN VÙNG CORE HCV VÀ CÁC KIỂU GEN SNP rs12979860 CỦA IL28B

4.2.1. Tỷ lệ các kiểu gen HCV

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.1 cho thấy khi định kiểu gen HCV của 134 bệnh nhân có HCV-RNA (+) xác định được ba kiểu gen chính là 6, 2 và 1 với tỷ lệ lần lượt là 43,3%, 40,3% và 16,4%.

Khi so sánh với kết quả nghiên cứu của Phạm Hùng Vân năm 2011 và kết quả nghiên cứu của Cao Minh Nga năm 2014 thì có sự khác biệt về tỷ lệ kiểu gen thấp nhất và cùng tương tự với kiểu gen cao nhất là kiểu gen 6. Nghiên cứu của Phạm Hùng Vân xác định kiểu gen HCV ở 842 bệnh nhân viêm gan virút C. Kiểu gen 6 chiếm tỷ lệ cao nhất (458 bệnh nhân; 54,4%), tiếp theo là kiểu gen 1 (256 bệnh nhân; 30,4%) và kiểu gen 2 (128 bệnh nhân; 15,2%). Như vậy, kiểu gen 2 có tỷ lệ thấp nhất [90]. Nghiên cứu của Cao Minh Nga trên 480 trường hợp, kiểu gen 6 chiếm tỷ lệ cao nhất 52,7%, kế đến là kiểu gen 1 với tỷ lệ 26,9% và kiểu gen 2 có tỷ lệ 19,8% [9].

Trong một nghiên cứu ở Nhật do tác giả Yasumi Furui tiến hành vào năm 2011 ở 114 người hiến máu tình nguyện. Kết quả cho thấy kiểu gen 2 (2a và 2b) chiếm ưu thế (78,2%), tiếp theo là kiểu gen 1b (21,2%) [39]. Với kết quả nghiên cứu của chúng tôi thì kiểu gen 6 chiếm ưu thế (43,3%), gồm các kiểu gen (6a, 6e, 6h, 6l, 6o, 6p), kế đến là kiểu gen 2a (40,3%) và thấp nhất là kiểu gen 1 (1a và 1b) với tỷ lệ 16,4% (5,2% và 11,2%). Thực tế ở Nhật, kiểu gen 1 lây truyền qua đường truyền máu, kiểu gen 2 lây truyền qua các thủ

thuật kém vệ sinh như xăm mình hoặc tiêm chích ma túy. Theo Yasumi Furui, tỷ lệ kiểu gen 1 thấp là do hiệu quả của việc kiểm soát nhiễm khuẩn bệnh viện.

Như vậy, tại Việt Nam kiểu gen 6 vẫn là kiểu gen HCV phổ biến nhất. Riêng kiểu gen 2 chiếm tỷ lệ cao hơn kiểu gen 1 trong nghiên cứu của chúng tôi có thể là đặc điểm của địa phương, ít lưu hành kiểu gen 1. Có khả năng tỷ lệ lây truyền HCV kiểu gen 1 đã giảm do việc sàng lọc HCV tất cả các bịch máu trước khi truyền. Tuy nhiên, để khẳng định cần có một nghiên cứu khác với số mẫu lớn hơn, bao gồm những người hiến máu (được xét nghiệm HCV-RNA).

Do số lượng bệnh nhân mang kiểu gen IL28B CT, TT trong nghiên cứu của chúng tôi có giới hạn, chỉ thu được 29 trường hợp nên chúng tôi tập trung khảo sát nhóm bệnh nhân mang kiểu gen IL28B CC.

Phân tích tỷ lệ kiểu gen HCV theo tuổi trong nhóm bệnh nhân có IL28B CC (n=105) ở bảng 3.24, nhóm bệnh nhân ≤ 60 tuổi và nhóm bệnh nhân > 60 tuổi có số lượng tương đương nhau (53 và 52 trường hợp). Kết quả phân tích thống kê cho thấy khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa với $p = 0,048 < 0,05$, PR = 1,78 (KTC 95%: 0,055-0,417). Như vậy, những bệnh nhân > 60 tuổi chủ yếu nhiễm HCV kiểu gen 2a.

Năm 2004, Lehmann M và cộng sự phát hiện “Tỷ lệ đào thải tự phát cao của những trường hợp viêm gan C cấp do HCV kiểu gen 3” ở Đức. Tác giả nhận thấy HCV kiểu gen 3 chiếm tỷ lệ cao hơn ở nhóm bệnh nhân đào thải virút tự phát so với nhóm bệnh nhân bị viêm gan virút C mạn tính (86% so với 38%; $p = 0,002$). Tỷ lệ viêm gan mạn tính của bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1 và 3 lần lượt là 93% và 63% ($p = 0,006$) chứng tỏ những bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 3 thường đào thải virút tự phát hơn những bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1 [61].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả phân tích ở bảng 3.24 cho thấy HCV kiểu gen 2a chiếm ưu thế ở những bệnh nhân > 60 tuổi. Như vậy có khả

năng đối với những bệnh nhân mang kiểu gen IL28B CC, khi nhiễm HCV kiểu gen 2a thì ít có cơ hội đào thải virút tự phát. Cần có một nghiên cứu khác, phân tích kiểu gen HCV của những bệnh nhân đào thải virút tự phát để làm rõ vấn đề này.

Phân tích kết quả khảo sát tỷ lệ kiểu gen HCV theo giới đối với những bệnh nhân mang kiểu gen IL28B CC ở bảng 3.24. Số lượng bệnh nhân nữ nhiều hơn nam (60 so với 45). Nhóm bệnh nhân nữ có tỷ lệ nhiễm HCV kiểu gen 2a cao hơn nhóm bệnh nhân nam (50% so với 31,1%). Ngược lại, nhóm bệnh nhân nam có tỷ lệ nhiễm HCV kiểu gen 1 (17,8%) và HCV kiểu gen 6 (51,1%) cao hơn nhóm bệnh nhân nữ (tỷ lệ tương ứng là 11,7% và 38,3%). Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,14 > 0,05$.

Xét riêng nhóm bệnh nhân nam và nữ ở bảng 3.25, được phân tích kiểu gen HCV theo tuổi.

Những bệnh nhân nam ≤ 60 tuổi có tỷ lệ nhiễm HCV kiểu gen 1 cao hơn những bệnh nhân thuộc nhóm > 60 tuổi (25% so với 9,5%). Ngược lại, nhóm bệnh nhân nam > 60 tuổi có tỷ lệ nhiễm HCV kiểu gen 2a và 6 nhiều hơn nhóm còn lại (38% và 52,5% so với 25% và 50%).

Đặc biệt khi phân tích sự khác biệt giữa các nhóm, trong nhóm bệnh nhân nam, sự khác biệt giữa các nhóm không ý nghĩa thống kê với $p = 0,34 > 0,05$, nhưng khi phân tích sự khác biệt giữa hai nhóm tuổi trong số những bệnh nhân nữ lại có ý nghĩa thống kê với $p = 0,03 < 0,05$. Xét riêng từng kiểu gen HCV nhận thấy ở phái nữ, kiểu gen 2a chiếm ưu thế ở nhóm tuổi > 60 (64,5%), với PR = 1,87 (KTC 95%: 0,059-0,541), trong khi kiểu gen 6 xuất hiện chủ yếu ở nhóm bệnh nhân ≤ 60 tuổi (55,2%), với PR = 2,44 (KTC 95%: 0,093-0,559). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi khác với kết quả nghiên cứu của Zhili Nui và cộng sự tại tỉnh Vũ Hán-Trung Quốc (2016). Tác giả khảo sát 2.685 mẫu huyết thanh có Anti-HCV (+), trong đó có 496 mẫu có HCV-RNA

(+). Kết quả cho thấy phái nữ đều có tỷ lệ nhiễm HCV kiểu gen 1, 2 và 6 cao nhất ở nhóm tuổi ≤ 60 [99].

4.2.2. Tỷ lệ các đột biến vùng core HCV

Khảo sát tần suất đột biến vùng core HCV ở bảng 3.2 cho thấy tỷ lệ bệnh nhân có kiểu gen HCV đột biến 56,7% với 76 trường hợp, chiếm ưu thế hơn so với nhóm không có kiểu gen HCV đột biến. Trong nhóm này, dạng đột biến chiếm tỷ lệ cao nhất là R70H L91C, 23,1% và kế đến là dạng R70Q L91C, 15,7%. Tuy nhiên, dạng đột biến L91C (n=11) được xem là không có ảnh hưởng đến kết quả điều trị cũng như biến chứng lâu dài của bệnh nhân viêm gan virút C mạn tính. Do đó tỷ lệ đột biến vùng core HCV thực sự là 65/134 (48,5%). Tỷ lệ này cao hơn nhiều so với nghiên cứu của Yasumi Furui và cộng sự năm 2011 [39]. Tác giả chỉ tìm thấy 7/85 (8,24%) trường hợp bệnh nhân người Nhật - hiến máu tình nguyện nhiễm HCV giai đoạn cấp có đột biến vùng core HCV (tuổi trung bình ở nam là 34 ± 3 , ở nữ là 29 ± 11). Khác biệt ở đây có thể là do trong nghiên cứu của chúng tôi, bệnh nhân thuộc nhóm viêm gan C mạn tính, đã nhiễm HCV trong một thời gian dài (tuổi trung bình ở nam là $57,58 \pm 12,02$, ở nữ là $59,54 \pm 11,36$). Như vậy, dưới áp lực miễn dịch dịch thể, Interferon nội sinh có thể vùng core HCV của những bệnh nhân này đã bị đột biến với tỷ lệ cao.

Ba dạng đột biến được quan tâm nhiều nhất R70Q, R70H và L91M có tỷ lệ lần lượt là 17,9%; 23,1% và 3,7%. Có 5 trường hợp hiện diện cả hai dạng đột biến R70Q L91M (3,7%).

Khảo sát tỷ lệ đột biến vùng core HCV theo giới ở bảng 3.3 cho thấy số lượng bệnh nhân nữ và bệnh nhân nam có đột biến vùng core HCV giống nhau (38 trường hợp). Tuy nhiên, nhóm bệnh nhân nam có tỷ lệ đột biến vùng core HCV cao hơn nhiều so với nhóm bệnh nhân nữ (67,9% so với 48,7%).

Khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê với $p = 0,04 < 0,05$, $OR = 0,45$ (KTC 95%: 0,220-0,920).

Tỷ lệ đột biến vùng core HCV theo tuổi cũng được khảo sát ở bảng 3.3 đã cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ đột biến vùng core HCV ở hai nhóm bệnh nhân ≤ 60 tuổi (67,1%) và > 60 tuổi (44,3%) với $p = 0,01 < 0,05$, $OR = 2,571$ (KTC 95%: 1,273-5,191).

Qua bảng 3.3, cho thấy đột biến vùng core HCV đặc biệt chiếm tỷ lệ cao ở nam giới và ở nhóm bệnh nhân ≤ 60 tuổi. Để tìm hiểu sự khác biệt này cần có các nghiên cứu khác, phân tích các yếu tố có thể gây tỷ lệ đột biến vùng core HCV ở nam giới cao như uống rượu, hút thuốc lá,... Ngoài ra, cần tiến hành khảo sát nhóm bệnh nhân viêm gan C cấp được phân theo tuổi để tìm hiểu tỷ lệ đột biến vùng core của nhóm tuổi dưới và trên 60.

Tiếp theo, bảng 3.4 khảo sát tần suất đột biến vùng core HCV theo tuổi nhưng lại ở hai nhóm nam và nữ riêng biệt. Kết quả cho thấy không có sự khác biệt giữa các nhóm, p-value lần lượt là 0,22 và 0,06 ($> 0,05$). Nhóm bệnh nhân nữ có tổng số là 78 người, ≤ 60 tuổi có 40 trường hợp và > 60 tuổi có 38 trường hợp. Như vậy cả hai nhóm tuổi đều có cỡ mẫu > 30 nên kết quả phân tích thống kê ở phái nữ có thể chấp nhận, không có sự khác biệt về tỷ lệ đột biến và không đột biến vùng core HCV theo tuổi. Tuy nhiên, ở nhóm bệnh nhân nam có 56 người, ≤ 60 tuổi có 33 trường hợp và > 60 tuổi chỉ có 23 trường hợp. Có thể thấy rõ nhóm bệnh nhân > 60 tuổi có cỡ mẫu ≤ 30 , không đủ lớn. Do đó, kết quả này chỉ nên ghi nhận, cần có một nghiên cứu khác với số mẫu lớn hơn để khảo sát tỷ lệ đột biến vùng core HCV ở bệnh nhân nam dưới 60 tuổi.

Tải lượng HCV-RNA của hai nhóm bệnh nhân viêm gan C mạn tính có đột biến và không đột biến vùng core HCV được khảo sát ở bảng 3.5 cho thấy trung vị tải lượng của nhóm có đột biến vùng core HCV lớn hơn trung vị tải lượng của nhóm không có đột biến vùng core HCV ($5,79 \times 10^6$ IU/ml so với

1,89 x 10⁶ IU/ml). Tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,1 > 0,05$.

Tải lượng HCV-RNA của hai nhóm bệnh nhân viêm gan C mạn tính theo tuổi (n=76), có đột biến vùng core HCV, được khảo sát ở bảng 3.6, cho thấy nhóm bệnh nhân ≤ 60 tuổi có trung vị tải lượng HCV-RNA (3,09 x 10⁶ IU/ml) nhỏ hơn nhiều so với nhóm bệnh nhân > 60 tuổi (9,18 x 10⁶ IU/ml). Phân tích kết quả cho thấy sự khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,56 > 0,05$.

Tải lượng HCV-RNA của hai nhóm bệnh nhân viêm gan C mạn tính theo tuổi (n=58), không có đột biến vùng core HCV cũng được ghi nhận ở bảng 3.6, cho thấy nhóm bệnh nhân ≤ 60 tuổi có trung vị tải lượng HCV-RNA (2,57 x 10⁶ IU/ml) lớn hơn so với nhóm bệnh nhân > 60 tuổi (1,67 x 10⁶ IU/ml). Tuy nhiên, phân tích kết quả cho thấy khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,35 > 0,05$.

Tải lượng HCV-RNA của hai nhóm bệnh nhân viêm gan C mạn tính theo giới (n=76), có đột biến vùng core HCV, được ghi nhận ở bảng 3.7, cho thấy nhóm bệnh nhân nam có trung vị tải lượng HCV-RNA (1,95 x 10⁶ IU/ml) nhỏ hơn nhiều so với nhóm bệnh nhân nữ (7,71 x 10⁶ IU/ml). Phân tích kết quả cho thấy không có sự khác biệt giữa các nhóm với $p = 0,11 > 0,05$.

Khảo sát tải lượng HCV-RNA của hai nhóm bệnh nhân nam và nữ, không có đột biến vùng core HCV (n=58) ở bảng 3.7. Trung vị tải lượng virút không khác nhau nhiều giữa hai nhóm bệnh nhân nam (1,97 x 10⁶ IU/ml) và nữ (1,89 x 10⁶ IU/ml). Phân tích kết quả cho thấy không có sự khác biệt giữa các nhóm với $p = 0,53 > 0,05$.

4.2.3. Tỷ lệ các kiểu gen SNP rs12979860 của IL28B

4.2.3.1. Khảo sát nhóm bệnh nhân có Anti-HCV (+) (n=164)

Trong nghiên cứu này, khi xác định kiểu gen IL28B tại vị trí rs12979860 của những bệnh nhân bị nhiễm HCV có kết quả như sau (biểu đồ 3.3): kiểu gen CC chiếm tỷ lệ cao nhất (81,1%), kế đến là kiểu gen CT (17,7%) và kiểu gen TT có tỷ lệ thấp nhất (1,2%). Kết quả này tương đồng với hai kết quả nghiên cứu khác tại Việt Nam. Năm 2012, Phạm Hoàng Phiệt và cộng sự xác định kiểu gen IL28B. Kết quả: CC (78%), CT (20%), TT (2%) [10]. Cũng trong năm này, tác giả Nguyễn Bảo Toàn công bố kết quả tần suất kiểu gen IL28B ở 239 bệnh nhân: CC (77%), CT (22%) và TT (1%) [18].

Biểu đồ 3.4 cho thấy trong 164 bệnh nhân có Anti-HCV (+), nhóm mang kiểu gen CC chiếm tỷ lệ cao nhất 81,1% (trong cả hai nhóm HCV-RNA (-) và HCV-RNA (+)). Đặc biệt, có 30 bệnh nhân có Anti-HCV (+) nhưng HCV-RNA (-). Có khả năng đây là những người đã đào thải HCV tự phát. Khác biệt về tỷ lệ kiểu gen CC và CT, TT của hai nhóm HCV-RNA (+) và HCV-RNA (-) không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,1 > 0,05$.

Tần suất kiểu gen IL28B CC cao ở bệnh nhân viêm gan C mạn tính người Việt Nam là một lợi thế cho việc điều trị, nhất là những bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1. ZhiFang Jia và cộng sự tổng quan 46 nghiên cứu độc lập cho thấy kiểu gen IL28B CC giữ vai trò tiên lượng đạt đáp ứng virút bền vững đối với bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1 và 4 [98].

Sau khi phân tích thống kê, nghiên cứu của chúng tôi không thể hiện được khác biệt về tỷ lệ kiểu gen IL28B CC và IL28B CT, TT giữa hai nhóm bệnh nhân có HCV-RNA (-) và HCV-RNA (+). Kết quả này khác với kết quả nghiên cứu của Thomas và cộng sự [30]. Nhóm nghiên cứu định kiểu gen SNP rs12979860 của IL28B ở hai nhóm bệnh nhân, nhóm thứ nhất gồm 388 người đã đào thải virút tự phát, nhóm thứ hai gồm 620 người viêm gan

virút C mạn tính. Kết quả phân tích thống kê cho thấy tần suất kiểu gen IL28B CC ở nhóm 1 cao hơn đáng kể so với nhóm 2 (80,3% so với 66,7% ở bệnh nhân người da trắng, $p = 7 \times 10^{-8}$; 56,2% so với 37% ở bệnh nhân người da đen, $p = 1 \times 10^{-5}$). Như vậy, kiểu gen IL28B CC có tác động đáng kể đến đào thải HCV tự phát.

Nhóm nghiên cứu của chúng tôi chỉ thu thập được 30 bệnh nhân có Anti-HCV (+) và HCV-RNA (-). Có thể cỡ mẫu này quá nhỏ nên chưa thấy được sự khác biệt về tần suất kiểu gen IL28B CC so với nhóm bệnh nhân viêm gan virút C mạn tính. Để khẳng định vai trò có lợi của kiểu gen IL28B CC trong việc thanh thải HCV cần có những thiết kế nghiên cứu mạnh và có cỡ mẫu lớn hơn, thu thập được nhiều bệnh nhân đào thải virút tự phát hơn.

Nhằm làm rõ các yếu tố có thể ảnh hưởng đến các chỉ dấu sinh học IL28B, kiểu gen HCV và đột biến vùng core HCV, chúng tôi khảo sát hai yếu tố tuổi và giới của các bệnh nhân thuộc hai nhóm HCV-RNA (+) và HCV-RNA (-).

Phân tích kết quả về tỷ lệ kiểu gen IL28B trong nhóm bệnh nhân có Anti-HCV (+) theo giới ở bảng 3.8, chúng tôi nhận thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai phái nam và nữ về kiểu gen IL28B CC và IL28 CT, TT trong mẫu nghiên cứu, $p = 0,71 > 0,05$. Năm 2016, Maryam và cộng sự công bố đề tài khảo sát 288 bệnh nhân Iran viêm gan C mạn tính. Khác với nhóm bệnh nhân nam, nhóm bệnh nhân nữ có tần suất kiểu gen CT và TT cao hơn nhóm chứng (68,2% so với 48,3%, $p < 0,01$) [66]. Như vậy, cần có một nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn và có nhóm chứng để tìm hiểu sự khác biệt về tỷ lệ kiểu gen IL28B theo giới tính đối với những bệnh nhân viêm gan C mạn tính.

Trong nhóm bệnh nhân tham gia nghiên cứu, chúng tôi cũng khảo sát tỷ lệ kiểu gen IL28B CC và IL28B CT, TT theo tuổi, được phân chia theo hai nhóm (≤ 60 tuổi và > 60 tuổi). Theo kết quả trong bảng 3.8, hai nhóm tuổi

không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ kiểu gen IL28B, $p = 0,36 > 0,05$. Như vậy có khả năng kiểu gen IL28B hầu như không thay đổi trong suốt đời sống của một người.

Kết quả bảng 3.9 cho thấy hai nhóm bệnh nhân nam ($n = 71$) và nhóm bệnh nhân nữ ($n = 93$) nhiễm HCV cũng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ kiểu gen IL28B trong các nhóm được chia theo tuổi (≤ 60 tuổi và > 60 tuổi), p-value lần lượt là 0,31 và 0,88 ($> 0,05$).

4.2.3.2. Khảo sát nhóm bệnh nhân có khả năng đã thanh thải virút (n=30)

Theo kết quả ở bảng 3.10 cho thấy trong số những bệnh nhân có khả năng đã thanh thải virút ($n=30$), tỷ lệ kiểu gen IL28B ở hai nhóm tuổi (≤ 60 tuổi và > 60 tuổi) không khác biệt, với kiểu gen IL28B CC chiếm ưu thế (tỷ lệ tương ứng là 100% và 83,3%), $p = 0,15 > 0,05$.

Bảng 3.10 cũng thể hiện tỷ lệ kiểu gen IL28 theo giới, trong nhóm bệnh nhân có HCV-RNA (-). Cả hai nhóm bệnh nhân nam và nữ đều có tỷ lệ như nhau 15/30 (50%) và tỷ lệ kiểu gen IL28B của hai nhóm đều giống nhau (kiểu gen CC: 93,3%, kiểu gen CT, TT: 6,7%), $p = 1 > 0,05$.

Theo kết quả bảng 3.11, những bệnh nhân có khả năng đã thanh thải virút được chia thành nhóm bệnh nhân nam ($n=15$) và nhóm bệnh nhân nữ ($n=15$), được khảo sát tỷ lệ kiểu gen IL28B theo hai nhóm tuổi (≤ 60 tuổi và > 60 tuổi). Nhóm nam và nữ đều có tỷ lệ kiểu gen IL28B CC cao ($\geq 80\%$). Đặc biệt tỷ lệ kiểu gen IL28B CC của những bệnh nhân ≤ 60 tuổi là 100%. Kết quả phân tích cho thấy sự khác biệt về tỷ lệ kiểu gen IL28B giữa hai nhóm tuổi của hai phái không có ý nghĩa thống kê, p-value tương ứng là 0,47 và 0,33 ($> 0,05$).

4.2.3.3. Khảo sát nhóm bệnh nhân chưa thanh thải virút, có HCV-RNA (+) (n=134)

Tỷ lệ kiểu gen IL28B của nhóm bệnh nhân có HCV-RNA (+), được khảo sát theo tuổi và giới trong bảng 3.12. Nhóm bệnh nhân > 60 tuổi mang kiểu gen IL28B CC chiếm ưu thế so với nhóm bệnh nhân ≤ 60 tuổi (85,2% so với 72,6%). Tương tự, nhóm bệnh nhân nam cũng có tỷ lệ mang kiểu gen IL28B CC cao hơn nhóm bệnh nhân nữ (80,4% so với 76,9%). Kết quả phân tích cho thấy sự khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, p-value lần lượt là 0,12 và 0,79, > 0,05.

Phân tích kết quả ở bảng 3.13, khảo sát tỷ lệ kiểu gen IL28B theo tuổi, ở 56 bệnh nhân nam có HCV - RNA (+), cho thấy nhóm bệnh nhân ≤ 60 tuổi có tỷ lệ kiểu gen IL28B CT, TT cao hơn nhiều so với nhóm bệnh nhân > 60 tuổi (27,3% so với 8,7%). Ngược lại, nhóm bệnh nhân > 60 tuổi lại có tỷ lệ bệnh nhân mang kiểu gen IL28B CC (91,3%) vượt trội so với nhóm bệnh nhân ≤ 60 tuổi (72,7%). Tuy nhiên, khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, p = 0,1 > 0,05.

Kết quả bảng 3.13 cũng gồm những bệnh nhân nữ có HCV-RNA (+), được phân tích tỷ lệ kiểu gen IL28B theo tuổi. Số lượng bệnh nhân trong hai nhóm tuổi (≤ 60 tuổi và > 60 tuổi) gần tương đương nhau (40 và 38). Tương tự nhóm bệnh nhân nam, kiểu gen IL28B CC chiếm ưu thế ở nhóm tuổi > 60 (81,6% so với 72,5%) trong khi tỷ lệ kiểu gen CT, TT của nhóm tuổi ≤ 60 gấp 1,5 lần so với nhóm tuổi > 60 (27,5%/18,4% = 1,5). Kết quả phân tích cho thấy khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, p = 0,49 > 0,05.

Như vậy, theo kết quả nghiên cứu của chúng tôi, không tìm thấy mối liên quan giữa các kiểu gen SNP rs12979860 của IL28B với các yếu tố tuổi, giới.

4.2.3.4. Mối liên quan giữa IL28B với tải lượng HCV-RNA theo tuổi, giới.

Năm 2011, Labarga P và cộng sự khảo sát 289 bệnh nhân đồng nhiễm HIV/HCV. Tải lượng virút HCV khác biệt giữa nhóm có allele C và nhóm còn lại: CC 1.385.000, CT 848.939, TT 251.189 IU/ml ($p = 0,006$). Tác giả cho rằng Interferon α nội sinh hoạt động yếu, cho phép virút sao chép mạnh ở nhóm bệnh nhân đầu tiên [58].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, bảng 3.14 có 29 bệnh nhân mang kiểu gen IL28B CT, TT. Chúng tôi so sánh tải lượng virút giữa hai nhóm bệnh nhân. Nhóm 1 có kiểu gen CC, nhóm 2 có kiểu gen CT, TT. Kết quả cho thấy tuy trung vị tải lượng virút của nhóm 1 nhỏ hơn trung vị tải lượng virút của nhóm 2 ($2,3 \times 10^6$ IU/ml so với $7,8 \times 10^6$ IU/ml), nhưng khác biệt này không có ý nghĩa thống kê, $p\text{-value} = 0,057 > 0,05$. Năm 2016, Fateme Zare và cộng sự công bố đề tài “Hiệu quả của gen IL28B đối với đáp ứng điều trị ở bệnh nhân viêm gan C”. Tác giả kết luận kiểu gen rs12979860 IL28B không có liên quan với tải lượng virút của nhóm bệnh nhân đáp ứng điều trị ($p = 0,3$) và nhóm bệnh nhân không đáp ứng điều trị với phác đồ Interferon-Ribavirin ($p = 0,2$) [35].

Do chỉ có 29 bệnh nhân mang kiểu gen IL28B CT, TT nên kết quả nghiên cứu của chúng tôi chỉ nên ghi nhận. Để có một sự khẳng định chính xác cần có một nghiên cứu bổ sung có số lượng mẫu lớn hơn, với số lượng bệnh nhân mang kiểu gen IL28B CT, TT nhiều hơn. Đồng thời nên phân hai nhóm đáp ứng điều trị và nhóm không đáp ứng điều trị để có kết luận khách quan, chính xác.

Tải lượng HCV-RNA ở bệnh nhân viêm gan C mạn tính được xét theo giới ở bảng 3.15, số bệnh nhân nữ ($n=78$) chiếm ưu thế hơn nhóm bệnh nhân nam ($n=56$) và có trung vị tải lượng HCV-RNA cao hơn nhóm bệnh nhân nam ($4,0 \times 10^6$ IU/ml so với $1,9 \times 10^6$). Tuy nhiên, kết quả phân tích cho thấy tải

lượng virút không khác biệt đáng kể giữa hai nhóm bệnh nhân này, $p = 0,54 > 0,05$.

Bảng 3.15 cũng khảo sát tải lượng HCV-RNA ở bệnh nhân viêm gan C mạn tính được xét theo tuổi. Số lượng bệnh nhân ≤ 60 tuổi ($n=73$) chiếm ưu thế hơn nhóm bệnh nhân > 60 tuổi ($n=61$), trung vị tải lượng HCV-RNA của hai nhóm tương đương nhau ($2,6 \times 10^6$ IU/ml và $2,2 \times 10^6$ IU/ml). Kết quả tải lượng virút không khác biệt giữa hai nhóm bệnh nhân này, $p = 0,57 > 0,05$.

Tải lượng HCV-RNA của nhóm bệnh nam viêm gan C mạn tính ($n=56$) ở bảng 3.16 được phân theo hai nhóm tuổi (≤ 60 tuổi và > 60 tuổi). Trung vị tải lượng HCV-RNA của hai nhóm gần bằng nhau ($1,8 \times 10^6$ IU/ml và $2,2 \times 10^6$ IU/ml). Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,91 > 0,05$.

Khác với nhóm bệnh nhân nam, những bệnh nhân nữ ≤ 60 tuổi, trong nhóm bệnh nhân nữ viêm gan C mạn tính ($n=78$), có trung vị tải lượng HCV RNA ($4,0 \times 10^6$ IU/ml), cao hơn so với nhóm > 60 tuổi ($3,2 \times 10^6$ IU/ml). Tuy nhiên, khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,44 > 0,05$.

Phân tích kết quả tải lượng HCV-RNA theo giới của những bệnh nhân đều mang IL28B CC ($n=105$) ở bảng 3.17, số lượng bệnh nhân nữ nhiều hơn bệnh nhân nam (60 so với 45) và có trung vị tải lượng HCV-RNA ($4,0 \times 10^6$ IU/ml) lớn hơn nhiều so với nhóm bệnh nhân nam ($1,5 \times 10^6$ IU/ml). Tuy nhiên, khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,33 > 0,05$.

Khảo sát tải lượng HCV-RNA theo tuổi, trong nhóm bệnh nhân có IL28B CC ($n=105$), ở bảng 3.17, hai nhóm tuổi có số lượng bệnh nhân gần bằng nhau, $n=52$ ở nhóm > 60 tuổi và $n=53$ ở nhóm ≤ 60 tuổi nhưng trung vị tải lượng của nhóm đầu tiên thấp hơn so với trung vị tải lượng của nhóm sau ($1,9 \times 10^6$ IU/ml so với $2,6 \times 10^6$ IU/ml). Kết quả phân tích cho thấy khác biệt giữa các nhóm không ý nghĩa thống kê, $p = 0,52 > 0,05$.

Xét riêng nhóm bệnh nhân nam đều mang IL28B CC (n=45) ở bảng 3.18, nhóm này được phân theo hai nhóm tuổi, nhóm > 60 tuổi (n=21) và nhóm ≤ 60 tuổi (n=24), có trung vị tải lượng chênh lệch không nhiều ($1,7 \times 10^6$ IU/ml và $1,4 \times 10^6$ IU/ml). Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,87 > 0,05$. Vì số lượng của hai nhóm đều nhỏ hơn 30 nên phân tích này cần được thực hiện với nghiên cứu khác, có cỡ mẫu lớn hơn.

Bảng 3.18 cũng gồm kết quả phân tích tải lượng HCV-RNA theo tuổi của những bệnh nhân nữ mang kiểu gen IL28B CC. Nhóm tuổi ≤ 60 tuổi có trung vị tải lượng HCV-RNA gấp hai lần so với nhóm tuổi > 60 tuổi ($4,2 \times 10^6$ IU/ml so với $2,0 \times 10^6$ IU/ml). Phân tích kết quả cho thấy khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,37 > 0,05$.

Khảo sát tải lượng HCV-RNA theo giới, ở nhóm bệnh nhân mang IL28B CT, TT (bảng 3.19) cho thấy nhóm bệnh nhân nam (n=11) có trung vị tải lượng cao hơn nhiều so với nhóm bệnh nhân nữ (n=18), lần lượt là $14,8 \times 10^6$ IU/ml và $5,2 \times 10^6$ IU/ml. Tuy nhiên, khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,7 > 0,05$.

Bảng 3.19 cũng phân tích tải lượng HCV-RNA theo tuổi của nhóm bệnh nhân có kiểu gen IL28B CT, TT. Số lượng bệnh nhân trong nhóm tuổi > 60 (n=9) chỉ bằng một nửa số lượng bệnh nhân trong nhóm tuổi ≤ 60 (n=20) nhưng trung vị tải lượng lớn hơn nhiều so với nhóm còn lại ($13,1 \times 10^6$ IU/ml và $2,9 \times 10^6$ IU/ml). Phân tích kết quả cho thấy sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,57 > 0,05$.

Như vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi không tìm thấy mối liên quan giữa IL28B với tải lượng HCV-RNA theo tuổi, giới.

4.3. MỐI LIÊN QUAN GIỮA ĐỘT BIẾN VÙNG CORE HCV VỚI CÁC KIỂU GEN HCV

Phân tích tần suất đột biến vùng core HCV theo kiểu gen HCV liệt kê ở bảng 3.20, chúng tôi ghi nhận được sự khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,0001$ (Fisher's exact test). Kiểu gen 6 có tỷ lệ đột biến vùng core cao nhất 72,4% (55/76), kế đến là nhóm 1b chiếm tỷ lệ 17,1% (13/76) và kiểu gen 1a chiếm 9,2% (7/76). Trong khi kiểu gen 2a có đột biến vùng core chiếm tỷ lệ thấp nhất, 1,3% (1/76). Đột biến vùng core dạng R70H L91C chiếm tỷ lệ cao nhất 40,8% (31 trường hợp), kế đến là đột biến dạng R70Q L91C và L91C có tỷ lệ 27,6% (21 trường hợp) và 14,5% (11 trường hợp). Tiếp theo là hai dạng đột biến L91M và R70Q L91M có tỷ lệ bằng nhau, 6,6% (5 trường hợp). Dạng đột biến R70Q chiếm tỷ lệ thấp nhất, 3,9% (3 trường hợp).

Năm 2012, Rossana C Jaspe và cộng sự tiến hành xác định đột biến vùng core HCV ở bệnh nhân Venezuela, có 266 người tham gia với các kiểu gen HCV gồm 1a, 1b, 2a, 2b, 2c, 2j và 3a. Kết quả ghi nhận có hai dạng đột biến R70Q và L/C91M và chủ yếu xuất hiện ở kiểu gen 1b (lần lượt là 30/38-79% và 26/38-68%) [80]. Kết quả này khác với kết quả nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ đột biến R70Q (gồm ba dạng: R70Q, R70Q L91C, R70Q L91M) và L91M (gồm hai dạng: L91M, R70Q L91M) lần lượt là 38,1% và 13,2%. Như vậy, nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ đột biến R70Q và L91M thấp hơn nhiều. Khác biệt này có thể do kết quả của chúng tôi có thêm dạng đột biến R70H (31 trường hợp, 40,8%) và dạng đột biến L91C (11 trường hợp, 14,5%).

Khảo sát bảng 3.21 về tần suất đột biến vùng core HCV theo kiểu gen HCV trong nhóm bệnh nhân có HCV-RNA (+) cho thấy tỷ lệ đột biến vùng core cao ở kiểu gen 1 (90,9%) và 6 (94,8%), trong khi kiểu gen 2a lại có tỷ lệ đột biến rất thấp (1,9%) với 1 trường hợp thuộc dạng đột biến là L91C (không ảnh hưởng đến đáp ứng điều trị và biến chứng ung thư biểu mô tế bào gan).

Phân tích cho thấy khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê với $p = 0,0001 < 0,05$.

Theo nghiên cứu của Yasumi Furui và cộng sự năm 2011 ở những người hiến máu tình nguyện, đột biến vùng core HCV xảy ra ở nhóm bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1b, không xuất hiện ở kiểu gen khác [39]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, hai nhóm bệnh nhân bị đột biến vùng core nhiều nhất lần lượt là nhóm bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 6 (72,4%) và kiểu gen 1b (17,1%). Trong đó, đột biến ở kiểu gen 6 xuất hiện tại vùng 70Q (21 trường hợp, 27,6%) và vùng 70H (31 trường hợp, 40,8%). Đột biến ở kiểu gen 1b xuất hiện đa dạng hơn, gồm đột biến 91M có tỷ lệ 6,6% (5 trường hợp), 70Q có tỷ lệ 3,9% (3 trường hợp) và quan trọng nhất là cùng xuất hiện đồng thời đột biến hai vị trí 70Q 91M có tỷ lệ 6,6% (5 trường hợp).

Tương tự Yasumi Furui, kết quả nghiên cứu của Rossana C Jaspe và cộng sự về “Tần suất đột biến vùng core HCV và vùng NS5B ở những chủng virút phân lập được từ bệnh nhân Venezuela, so sánh với những chủng virút phân lập được trên thế giới” cho thấy hai dạng đột biến vùng core R70Q và L91M chỉ xuất hiện ở nhóm bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1b ($p < 0,001$) [80].

Như vậy, do đặc điểm phân bố kiểu gen HCV theo địa phương nên trong hai nghiên cứu này các tác giả không tìm thấy bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 6 trong khi nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ đột biến vùng core R70Q lên đến 27,6% ở bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 6. Đây là đặc thù của sự phân bố kiểu gen HCV ở vùng Đông Nam Á, những khu vực khác ít khi phân lập được kiểu gen 6 [92].

Trong nghiên cứu của chúng tôi chưa thấy xuất hiện những dạng đột biến quan trọng (R70Q, R70H, L91M) ở nhóm bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1a, 2a mà chỉ có dạng đột biến L91C. Ngược lại, nhóm bệnh nhân nhiễm kiểu gen 1b và 6 có tỷ lệ đột biến vùng core HCV rất cao. Đối với HCV-1b là

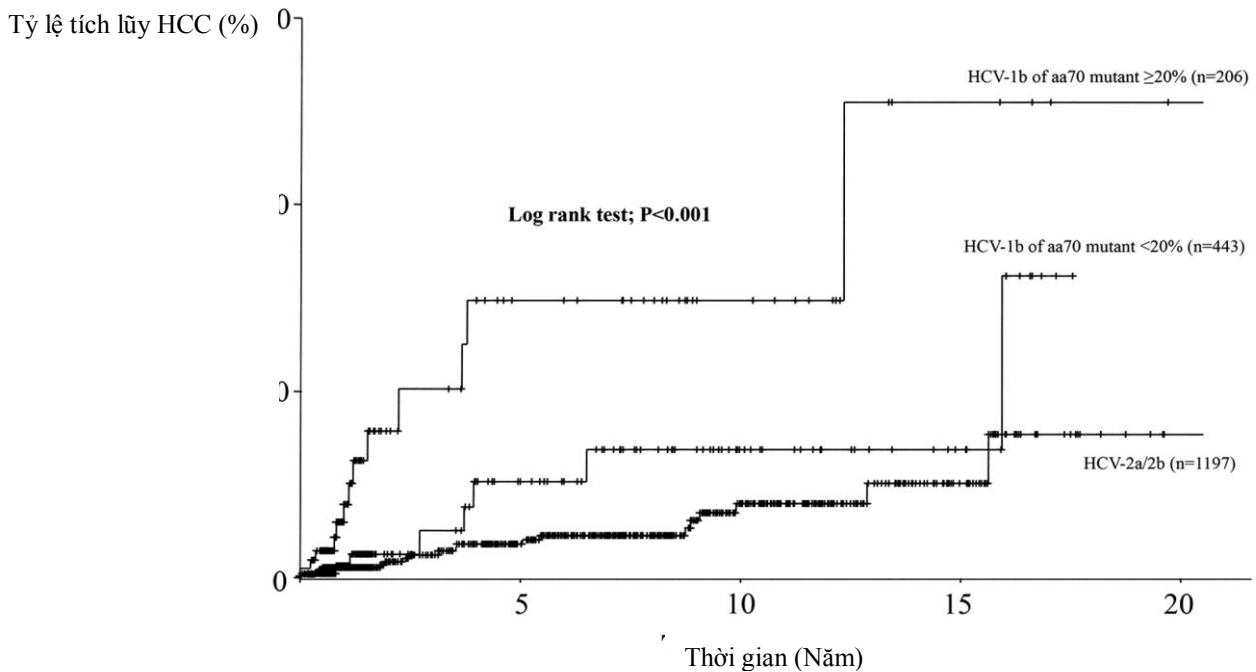
13/15-86,7% và đối với HCV-6 là 52/58-89,7% (đã loại bớt 3 trường hợp đột biến dạng L91C). Mặc dù HCV kiểu gen 6 là nhóm có tỷ lệ đột biến vùng core nhiều nhất nhưng HCV kiểu gen 1b có vai trò quan trọng hơn trong việc tiên lượng đáp ứng điều trị vì tuy tỷ lệ đột biến thấp hơn nhưng lại xuất hiện những vị trí đột biến đa dạng, phức tạp.

Riêng nhóm bệnh nhân có IL28B CC, khi khảo sát về tần suất đột biến trong ba nhóm kiểu gen ở bảng 3.22 cũng cho kết quả tương tự, tỷ lệ đột biến cao ở kiểu gen 1 (86,7%) và 6 (95,7%) nhưng nhóm kiểu gen 2a lại có tỷ lệ đột biến thấp (2,3%), thuộc dạng L91C. Khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê với $p = 0,0001 < 0,05$.

Khảo sát tần suất đột biến vùng core HCV theo ba kiểu gen 1, 2a và 6 ở các bệnh nhân có kiểu gen IL28B CT, TT (bảng 3.22). Tỷ lệ nhóm bệnh nhân mang virút không có đột biến vùng core HCV khá thấp so với nhóm còn lại (11/29-37,9% so với 18/29-62,1%). Khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê với $p = 0,0001 < 0,05$. Tỷ lệ đột biến cao ở hai kiểu gen 1 (100%) và 6 (91,7%) nhưng lại không có đột biến ở kiểu gen 2a (0%). Do số lượng bệnh nhân mang kiểu gen IL18B CT, TT không nhiều (29 trường hợp) nên kết quả này chỉ nên ghi nhận, cần được khẳng định bằng một nghiên cứu khác có cỡ mẫu lớn hơn.

Năm 2015, Norio Akuta và cộng sự công bố đề tài “Tác động của đột biến aa70 vùng core HCV kiểu gen 1b lên ung thư biểu mô tế bào gan sau khi đã loại bỏ HCV-RNA” [24]. Tác giả theo dõi 2.121 bệnh nhân nhiễm HCV-1b, 2a, 2b đã đạt đáp ứng virút bền vững (từ 1987 đến 2013). Có 43 bệnh nhân (2%) bị ung thư biểu mô tế bào gan (hepaticellular carcinoma, HCC). 649 bệnh nhân nhiễm HCV-1b đã được định lượng mức đột biến vùng core aa70 trước khi bắt đầu điều trị. Kết quả phân tích thống kê cho thấy tỷ lệ HCC khác biệt có ý nghĩa ở ba kiểu gen HCV ($p < 0,001$). Đặc biệt, tỷ lệ HCC ở bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1b – có mức độ đột biến aa70 $\geq 20\%$ nhiều hơn so với

nhóm bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1b – có mức độ đột biến aa70 < 20% ($p = 0,005$); đồng thời cũng nhiều hơn nhóm bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 2a, 2b ($p < 0,001$)



Biểu đồ 3.6. Tỷ lệ tích lũy HCC ở bệnh nhân nhiễm HCV-1b-2a-2b

Như vậy, mức độ đột biến vùng core aa70 $\geq 20\%$ là chỉ dấu ung thư biểu mô tế bào gan. Do đó, cần xác định mức độ đột biến vùng core aa70 ở bệnh nhân nhiễm HCV-1b trước khi tiến hành điều trị loại bỏ HCV-RNA [21].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 2a chiếm tỷ lệ khá cao (40,3%), đứng hàng thứ hai. Có khả năng những bệnh nhân này cũng ít bị biến chứng ung thư biểu mô tế bào gan sau khi đạt SVR. Tuy nhiên, cần có nghiên cứu kiểm chứng, theo dõi biến chứng ung thư biểu mô tế bào gan ở bệnh nhân viêm gan virus C mạn tính người Việt Nam sau khi đã đào thải HCV bằng thuốc kháng virút.

4.4. MỐI LIÊN QUAN GIỮA CÁC KIỂU GEN SNP rs12979860 CỦA IL28B VỚI CÁC KIỂU GEN HCV VÀ ĐỘT BIẾN VÙNG CORE HCV

4.4.1 Tỷ lệ SNP rs12979860 của IL28B theo kiểu gen HCV

Sau khi phân tích tỷ lệ SNP rs12979860 của IL28B theo kiểu gen HCV trong nhóm bệnh nhân có HCV-RNA (+) (n=134) ở bảng 3.23, chúng tôi nhận thấy khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,43 > 0,05$. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Maryam và cộng sự năm 2016 [66], kết quả nghiên cứu của Fateme Zare và cộng sự năm 2016 [35], không tìm thấy mối liên quan giữa SNP rs12979860 IL28B với kiểu gen HCV. Ngược lại, kết quả nghiên cứu của chúng tôi khác với kết quả của Christoph Sarrazin. Với 267 trường hợp nhiễm viêm gan C mạn tính kiểu gen 2 và 3 và 378 trường hợp nhiễm viêm gan C mạn tính do kiểu gen 1, được so sánh với nhóm chứng 200 người khỏe mạnh, tần suất kiểu gen IL28B CC lại thấp hơn trong nhóm bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1 so với nhóm bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 2 và 3. Theo kết luận của Christoph Sarrazin, trong nhóm bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 2 và 3, kiểu gen IL28B CC có liên quan với đáp ứng virút bền vững ($p = 0,01$) [82].

Có thể do không có sự chọn lọc trong quá trình nhiễm HCV theo kiểu gen HCV và kiểu gen IL28B của bệnh nhân nên hai chỉ dấu sinh học này độc lập với nhau. Nhìn chung, nhóm bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 6 chiếm tỷ lệ cao trong nghiên cứu của chúng tôi. Tuy nhiên, không có sự khác biệt giữa hai nhóm có kiểu gen IL28B CC và nhóm có kiểu gen IL28B CT, TT. Nghiên cứu của chúng tôi chỉ đưa ra nhận xét khách quan, chưa thể xác định được tính thanh thải virút ở bệnh nhân có kiểu gen IL28B CC. Để đưa ra kết luận chính xác hơn, cần có những nghiên cứu khác với thiết kế nghiên cứu tốt hơn, cỡ mẫu lớn hơn và với thời gian dài hơn, khảo sát trên nhiều yếu tố giúp loại trừ được những khả năng gây nhiễu.

4.4.2. Tải lượng HCV-RNA theo kiểu gen IL28B, của từng loại kiểu gen HCV.

Khi khảo sát tải lượng HCV-RNA của hai nhóm bệnh nhân IL28B CC và IL28B CT, TT được phân theo từng kiểu gen 1, 2a và 6 ở bảng 3.26 cho thấy khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Trong đó, xét riêng từng kiểu gen thì kiểu gen 1, 2a có trung vị tải lượng virút không khác nhau lắm giữa hai nhóm bệnh nhân IL28B CC và IL28B CT, TT ($3,9 \times 10^6$ IU/ml; $2,6 \times 10^6$ IU/ml ở kiểu gen 1 và $1,37 \times 10^6$ IU/ml; $1,2 \times 10^6$ IU/ml ở kiểu gen 2a). Trong khi đó những bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 6 có trung vị tải lượng virút ở nhóm IL28B CC thấp hơn so với nhóm IL28B CT, TT ($6,6 \times 10^6$ IU/ml và $9,9 \times 10^6$ IU/ml).

Khi khảo sát riêng nhóm bệnh nhân IL28B CC, so sánh tải lượng virút giữa các nhóm kiểu gen 1, 2a và 6 ở bảng 3.27 cho thấy trung vị tải lượng virút của kiểu gen 2a thấp hơn nhiều so với hai kiểu gen 1 và 6 ($1,4 \times 10^6$ IU/ml so với $3,9 \times 10^6$ IU/ml và $6,6 \times 10^6$ IU/ml). Kết quả phân tích cho thấy sự khác biệt giữa nhóm kiểu gen 1 và hai nhóm kiểu gen còn lại không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) trong khi sự khác biệt giữa nhóm kiểu gen 2a và nhóm kiểu gen 6 có ý nghĩa thống kê, $p = 0,01 < 0,05$. Như vậy, bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 6 có tải lượng virút nhiều hơn bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 2a. Kết quả này gần giống như kết quả của Xia Rong và cộng sự trong một đề tài nghiên cứu được công bố vào năm 2012, “Tương quan giữa tải lượng virút và kiểu gen HCV: người hiến máu nhiễm HCV kiểu gen 6a có tải lượng virút cao hơn các kiểu gen khác”. Tác giả khảo sát 299 người hiến máu tình nguyện bị nhiễm HCV (ở Viện huyết học Quảng Châu), xác định được bốn kiểu gen 1, 2, 3 và 6 với tỷ lệ lần lượt là 48,9%, 8,7%, 12,3% và 30,1%. Tải lượng virút ở nhóm bệnh nhân nhiễm kiểu gen 1 và 6 ($6,07$ và $6,15 \log_{10}$ IU/ml) cao hơn tải lượng virút của nhóm bệnh nhân nhiễm kiểu gen 2 và 3 ($5,66$ và $5,49 \log_{10}$ IU/ml), $p < 0,001$ [79]. Do đặc thù của Việt Nam nên

trong nghiên cứu này chúng tôi không phân lập được kiểu gen 3. Kết quả cho thấy trung vị tải lượng virút của nhóm bệnh nhân nhiễm kiểu gen 6 cao hơn trung vị tải lượng của hai kiểu gen 1 và 2a ($6,6 \times 10^6$ IU/ml so với $3,9 \times 10^6$ IU/ml và $1,4 \times 10^6$ IU/ml). Tuy nhiên có thể do cỡ mẫu nghiên cứu của chúng tôi không đủ lớn (chỉ có 15 bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1) nên khác biệt giữa tải lượng virút của nhóm bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1 với tải lượng virút của hai nhóm bệnh nhân còn lại không có ý nghĩa thống kê.

4.4.3. Mối liên quan giữa IL28B với kiểu gen của HCV theo tuổi, giới.

Khảo sát tỷ lệ IL28B theo giới và tuổi của từng kiểu gen (1, 2a và 6) ở bảng 3.28.

Nhìn chung, tỷ lệ kiểu gen IL28B CC của những bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1 và 6 gần giống nhau ở hai phái nam và nữ (tỷ lệ tương ứng là 66,7%-70%/kiểu gen 1 và 79,3%-79,3%/kiểu gen 6). Riêng những bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 2a thì phái nam có tỷ lệ mang kiểu gen IL28B CC nhiều hơn phái nữ (93,3% so với 76,9%).

Nếu xét theo tuổi thì tỷ lệ kiểu gen IL28B CC của hai nhóm tuổi (≤ 60 và > 60) ở nhóm bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1 gần tương tự nhau (69,2% và 66,7%). Tuy nhiên, kiểu gen IL28B CC chiếm ưu thế ở những bệnh nhân > 60 tuổi nhiễm HCV kiểu gen 2a và 6 (87,5%/kiểu gen 2a và 90%/kiểu gen 6). Phân tích thống kê cho thấy khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

4.4.4. Mối liên quan giữa các kiểu gen SNP rs12979860 của IL28B với đột biến vùng core HCV

Khảo sát mối liên quan giữa IL28B với đột biến vùng core HCV trong nhóm bệnh nhân có HCV-RNA dương tính (n=134) ở bảng 3.29, chúng tôi nhận thấy khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,65 > 0,05$. Kết quả này tương tự với kết quả của Alestig và cộng sự năm 2011 trên

50 bệnh nhân da trắng nhiễm HCV kiểu gen 1b. Erik Alestig kết luận IL28B và đột biến vùng core HCV độc lập với nhau [34]. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của chúng tôi khác với kết quả của hai nghiên cứu sau:

- Năm 2010, Mariko Kobayashi và cộng sự nghiên cứu đề tài “Mối liên quan giữa SNP IL28B và đột biến axit amin ở vùng core HCV của bệnh nhân người Nhật viêm gan C mạn tính”. Tác giả kết luận tần suất đột biến dạng R70Q chiếm ưu thế ở nhóm bệnh nhân nữ mang kiểu gen CT, TT:

. Tỷ lệ đột biến R70Q ở bệnh nhân nữ mang kiểu gen CT, TT: 19/32 (59,3%)

. Tỷ lệ đột biến R70Q ở bệnh nhân nam mang kiểu gen CT, TT: 26/50 (52,0%).

. Tỷ lệ đột biến R70Q ở bệnh nhân nữ mang kiểu gen CC: 26/81 (32,1%)

. Tỷ lệ đột biến R70Q ở bệnh nhân nam mang kiểu gen CC: 27/125 (21,6%) [65].

- Năm 2016, Danesh Kadjbaf và cộng sự khảo sát đề tài “Tần suất đột biến axit amin 70 vùng core HCV và kiểu gen của đa hình gần gen IFNL3 ở bệnh nhân viêm gan virút C mạn tính”. Có 429 bệnh nhân tham gia nghiên cứu trong số đó 426 bệnh nhân được định kiểu gen rs12979860. Kết quả có 75 bệnh nhân mang kiểu gen TT. Tác giả kết luận đột biến axit amin 70 vùng core HCV phổ biến hơn ở nhóm bệnh nhân mang kiểu gen rs12979860 TT so với nhóm bệnh nhân không mang kiểu gen này (17,3% so với 8,5%, $p = 0,022$) [27].

Như vậy, theo kết quả của hai nghiên cứu trên, đột biến axit amin 70 ở vùng core HCV thường xuất hiện ở bệnh nhân viêm gan virút C mạn tính có kiểu gen IL28B CT, TT.

Do mẫu nghiên cứu của chúng tôi không đủ lớn, chỉ thu được 29 trường hợp bệnh nhân có kiểu gen CT, TT nên không thể kiểm chứng kết quả của hai nghiên cứu trên. Cần có những nghiên cứu khác với số mẫu lớn hơn, có nhiều bệnh nhân viêm gan C mạn tính mang kiểu gen CT, TT hơn.

Tỷ lệ HCV đột biến vùng core theo tuổi trong nhóm người có IL28B CC (n=105) ở bảng 3.30 cho thấy hai nhóm bệnh nhân ≤ 60 tuổi (50,5%) và > 60 tuổi (49,5%) có số lượng gần bằng nhau (53 và 52 trường hợp). Tuy nhiên, số lượng bệnh nhân mang virus đột biến vùng core HCV chiếm ưu thế so với số lượng bệnh nhân không mang virus đột biến vùng core (58 so với 47 trường hợp). Đặc biệt, những bệnh nhân ≤ 60 tuổi có tỷ lệ mang virus đột biến nhiều hơn gấp đôi so với nhóm bệnh nhân có vùng core HCV bình thường (67,9% so với 32,1%).

Xét về tỷ lệ virút đột biến nhận thấy trong nhóm bệnh nhân có virút đột biến thì tỷ lệ bệnh nhân ≤ 60 tuổi (36/58 – 62,1%) cao hơn nhiều so với nhóm bệnh nhân > 60 tuổi (22/58 – 37,9%), trong khi nhóm bệnh nhân không có virút đột biến thì tỷ lệ bệnh nhân ≤ 60 tuổi (17/47 – 36,2%) thấp hơn nhiều so với nhóm bệnh nhân > 60 tuổi (30/47 – 63,8%). Phân tích kết quả cho thấy sự khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê với $p = 0,04 < 0,05$, OR = 2,888 (KTC 95%: 1,301-6,408), đột biến vùng core phổ biến ở bệnh nhân ≤ 60 tuổi. Tỷ lệ HCV đột biến vùng core theo tuổi, trong nhóm bệnh nhân có IL28B CT, TT (n=29) ở bảng 3.30 cho thấy nhóm bệnh nhân ≤ 60 tuổi có số lượng nhiều gấp đôi nhóm bệnh nhân > 60 tuổi (20 so với 9). Xét về tỷ lệ virút đột biến thì trong nhóm bệnh nhân có virút đột biến, tỷ lệ bệnh nhân ≤ 60 tuổi (13/18 – 72,2%) cao hơn nhiều so với nhóm bệnh nhân > 60 tuổi (5/18 – 27,8%). Tương tự, nhóm bệnh nhân không có virút đột biến thì tỷ lệ bệnh nhân ≤ 60 tuổi (7/11 – 63,6%) cao hơn nhiều so với nhóm bệnh nhân > 60 tuổi (4/11 – 36,4%). Phân tích kết quả cho thấy không có sự khác biệt giữa các nhóm với $p = 0,69 > 0,05$. Tuy nhiên, kết quả này chỉ nên ghi nhận do số lượng mẫu giới hạn ở mức 29 bệnh nhân. Cần có một nghiên cứu khác có cỡ mẫu lớn hơn để xác định rõ liệu có sự khác biệt về tỷ lệ đột biến vùng core HCV theo tuổi trong nhóm bệnh nhân mang kiểu gen IL28B CT, TT.

Tỷ lệ HCV đột biến vùng core theo giới, trong nhóm bệnh nhân có IL28B CC (n=105), ở bảng 3.30, ghi nhận số lượng bệnh nhân nữ (60 trường hợp) nhiều hơn số lượng bệnh nhân nam (45 trường hợp). Xét nhóm bệnh nhân nữ, có tỷ lệ bệnh nhân không có virus đột biến (51,7%) và có virus đột biến (48,3%) gần tương đương nhau trong khi nhóm bệnh nhân nam có tỷ lệ bệnh nhân mang virus đột biến (64,4%) cao hơn nhóm bệnh nhân không đột biến (35,6%). Xét nhóm bệnh nhân có virus đột biến cho thấy tỷ lệ nam và nữ bằng nhau (29/58 – 50%). Trong khi ở nhóm bệnh nhân không có virus đột biến thì tỷ lệ bệnh nhân nữ (31/47 – 66%) nhiều hơn gần gấp đôi tỷ lệ bệnh nhân nam (16/47 – 34%). Phân tích kết quả cho thấy không có sự khác biệt giữa các nhóm với $p = 0,14 > 0,05$.

Tỷ lệ đột biến vùng core HCV theo giới, trong nhóm bệnh nhân có IL28B CT, TT (n=29) ở bảng 3.30 cho thấy số lượng bệnh nhân nữ (18 trường hợp) nhiều hơn số lượng bệnh nhân nam (11 trường hợp). Xét riêng nhóm bệnh nhân nữ có tỷ lệ bệnh nhân mang virus đột biến và không đột biến bằng nhau (9/18 – 50%). Ngược lại, nhóm bệnh nhân nam có tỷ lệ bệnh nhân mang virus đột biến (81,8%) cao hơn nhiều so với nhóm bệnh nhân không mang virus đột biến (18,2%). Xét nhóm bệnh nhân mang virus đột biến thì tỷ lệ bệnh nhân nam và nữ bằng nhau (9/18 – 50%). Nhóm bệnh nhân không mang virus đột biến có tỷ lệ bệnh nhân nữ (9/11 – 81,8%) cao hơn rất nhiều so với bệnh nhân nam (2/11 – 18,2%). Phân tích kết quả cho thấy không có sự khác biệt giữa các nhóm với $p = 0,12 > 0,05$.

Tải lượng HCV-RNA của hai nhóm bệnh nhân viêm gan C mạn tính có đột biến và không đột biến vùng core HCV, đều mang IL28B CC, được khảo sát ở bảng 3.31, trung vị tải lượng của nhóm có đột biến vùng core HCV lớn hơn trung vị tải lượng của nhóm không có đột biến vùng core HCV ($5,8 \times 10^6$

IU/ml so với $1,7 \times 10^6$ IU/ml). Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,053 > 0,05$.

Tải lượng HCV-RNA của hai nhóm bệnh nhân viêm gan virút C mạn tính có đột biến và không đột biến vùng core HCV, mang kiểu gen IL28B CT, TT cũng được phân tích ở bảng 3.31, cho thấy trung vị tải lượng của hai nhóm gần bằng nhau ($8,1 \times 10^6$ IU/ml so với $7,8 \times 10^6$ IU/ml). Khác biệt giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,8 > 0,05$.

Tải lượng HCV-RNA theo kiểu gen IL28B, có đột biến vùng core HCV, thuộc kiểu gen 1 (n=20) và kiểu gen 6 (n=55) ở bảng 3.32.

Đối với nhóm bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 1, trung vị tải lượng HCV-RNA gần bằng nhau ở hai nhóm bệnh nhân mang IL28B CC và IL28B CT, TT ($3,0 \times 10^6$ IU/ml so với $2,6 \times 10^6$ IU/ml). Tuy nhiên, tải lượng HCV-RNA của những bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 6 có chênh lệch giữa hai nhóm. Nhóm bệnh nhân IL28B CT, TT có trung vị tải lượng ($16,7 \times 10^6$ IU/ml) lớn hơn nhiều so với nhóm bệnh nhân mang kiểu gen IL28B CC ($6,9 \times 10^6$ IU/ml). Khi phân tích kết quả thì khác biệt giữa các nhóm được xét riêng theo kiểu gen 1 và 6 đều ghi nhận không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p-value lần lượt là 0,72 và 0,17 ($> 0,05$). Như vậy, chúng tôi:

* Không tìm thấy mối liên quan giữa các kiểu gen SNP rs12979860 của IL28B với kiểu gen của HCV và đột biến vùng core HCV

* Tuy nhiên, đối với bệnh nhân mang kiểu gen IL28B CC:

- HCV kiểu gen 2a chiếm ưu thế ở nhóm bệnh nhân trên 60 tuổi.
- Trong nhóm bệnh nhân nữ: HCV kiểu gen 6 chiếm ưu thế ở nhóm bệnh nhân ≤ 60 tuổi; HCV kiểu gen 2a chiếm ưu thế ở nhóm bệnh nhân > 60 tuổi.
- Tải lượng HCV-RNA ở kiểu gen 6 nhiều hơn tải lượng HCV-RNA ở kiểu gen 2a.
- Đột biến vùng core phổ biến ở bệnh nhân ≤ 60 tuổi.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 164 bệnh nhân nhiễm HCV, trong đó có 30 bệnh nhân không phát hiện được HCV-RNA và 134 bệnh nhân được định lượng HCV-RNA bằng kỹ thuật real-time PCR.

1. Xác định được ba kiểu gen HCV lưu hành là 6, 2 và 1 với tỷ lệ lần lượt là 43,3%, 40,3% và 16,4%.

Phát hiện được các dạng đột biến vùng core HCV với tỷ lệ như sau: R70H L91C (40,8%), R70Q L91C (27,6%), L91C (14,5%), L91M (6,6%), R70Q L91M (6,6%) và R70Q (3,9%).

Xác định được tỷ lệ kiểu gen SNP rs12979860 của IL28B lần lượt là: CC (81,1%), CT (17,7%) và TT (1,2%). Không tìm thấy sự khác biệt về tần suất kiểu gen IL28B CC ở hai nhóm bệnh nhân có HCV-RNA (-) và HCV-RNA (+).

2. Tỷ lệ đột biến vùng core rất cao với HCV kiểu gen 1 và 6 (90,9% và 94,8%) nhưng rất thấp với HCV kiểu gen 2a (1,9%) ($p = 0,0001$).

3. Không tìm thấy mối liên quan giữa các kiểu gen SNP rs12979860 của IL28B với các kiểu gen HCV và đột biến vùng core HCV.

KIẾN NGHỊ

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy đột biến vùng core HCV phổ biến ở nhóm bệnh nhân nhiễm HCV kiểu gen 6 và 1b. Do đó, cần có những nghiên cứu đánh giá vai trò của đột biến vùng core HCV trong việc theo dõi biến chứng ung thư biểu mô tế bào gan ở những bệnh nhân này, sau khi đã đạt đáp ứng virút bền vững.