

BỘ GIÁO DỤC ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG

-----*

NGUYỄN VĂN DŨNG

**ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ, SINH HỌC PHÂN TỬ,
LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG VÀ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG
ĐẾN HIỆU QUẢ ĐIỀU TRỊ VIÊM GAN VI RÚT B MẠN
BẰNG THUỐC KHÁNG VI RÚT**

LUẬN ÁN TIẾN SỸ Y HỌC

HÀ NỘI - 2015

BỘ GIÁO DỤC ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG

-----*-----

NGUYỄN VĂN DŨNG

**ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ, SINH HỌC PHÂN TỬ,
LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG VÀ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG
ĐẾN HIỆU QUẢ ĐIỀU TRỊ VIÊM GAN VI RÚT B MẠN
BẰNG THUỐC KHÁNG VI RÚT**

Chuyên ngành : DỊCH TỄ HỌC

Mã số : 62 72 01 17

LUẬN ÁN TIẾN SỸ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

PGS.TS Trịnh Thị Ngọc

TS Nguyễn Thị Lan Anh

HÀ NỘI - 2015

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi.

Các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Tác giả luận án

Nguyễn Văn Dũng

LỜI CẢM ƠN

Có được kết quả hôm nay, tôi luôn tưởng nhớ và ghi lòng công ơn của các Thầy Cô đã dạy dỗ tôi từ những bước đi ban đầu trong sự nghiệp, cho tôi ước mơ và nghị lực để tôi luôn phấn đấu trong suốt cuộc đời mình.

Tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới

PGS.TS Trịnh Thị Ngọc, Nguyên Trưởng khoa Truyền nhiễm - Bệnh viện Bạch Mai, người thầy đã hướng dẫn, giúp đỡ tôi trong học tập và nghiên cứu, trực tiếp hướng dẫn luận án và tạo điều kiện thuận lợi để giúp tôi hoàn thành luận án.

TS. Nguyễn Thị Lan Anh, Trưởng khoa Miễn dịch Sinh học phân tử - Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương, người thầy đã hết lòng dìu dắt, hướng dẫn tôi trong học tập và nghiên cứu, tận tình, nghiêm khắc hướng dẫn tôi thực hiện đề tài, giúp tôi giải quyết khó khăn vướng mắc trong quá trình thực hiện luận án, đóng góp cũng như tạo mọi điều kiện thuận lợi để giúp tôi hoàn thành luận án.

GS.TS Phạm Ngọc Đính, Nguyên Phó Viện trưởng Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương, người Thầy đã giúp đỡ tôi trong học tập và nghiên cứu, tận tình giúp đỡ và đóng góp nhiều ý kiến quý báu cho tôi trong suốt quá trình thực hiện luận án.

BSCCKII Nguyễn Quang Tuấn, Trưởng khoa Truyền nhiễm - Bệnh viện Bạch Mai cùng tập thể ban lãnh đạo khoa đã tạo điều kiện tốt nhất cho tôi học tập và hoàn thành luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn đến toàn thể các cán bộ Phòng thí nghiệm Chẩn đoán phân tử, Khoa Miễn dịch Sinh học phân tử, Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương, đã giúp đỡ tôi thực hiện các kỹ thuật xét nghiệm sinh học phân tử, phân tích số liệu và hoàn thành luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành đến toàn thể các bác sỹ, điều dưỡng Khoa Truyền nhiễm - Bệnh viện Bạch Mai, đã giúp đỡ tôi thực hiện và hoàn thành luận án.

Tôi cũng xin được bày tỏ lời cảm ơn chân thành tới:

- Đảng ủy, ban Giám đốc bệnh viện Bạch Mai đã tạo điều kiện để tôi học tập và hoàn thành luận án.

- Đảng ủy, Ban Giám đốc cùng các khoa phòng của Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương, đã tạo mọi điều kiện thuận lợi giúp đỡ tôi học tập, thực hiện nghiên cứu và hoàn thành luận án.

- Phòng Đào tạo Sau đại học - Khoa Đào tạo và Quản lý Khoa học - Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương, đã giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi để tôi học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án.

- Các Thầy Cô Bộ môn Dịch tễ học. Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương. Các thầy cô đã nhiệt tình dạy bảo, giúp đỡ tôi trong quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận án.

- Những bệnh nhân và người nhà bệnh nhân đã giúp tôi thực hiện nghiên cứu và cung cấp cho tôi những số liệu vô cùng quý giá để tôi hoàn thành luận án.

Cuối cùng, xin cảm ơn gia đình, vợ và các con tôi đã động viên, giúp đỡ, là chỗ dựa vô cùng to lớn cả về vật chất lẫn tinh thần để tôi thực hiện và hoàn thành luận án.

Hà Nội, ngày 09 tháng 4 năm 2015.

Tác giả luận án

Nguyễn Văn Dũng

MỤC LỤC

Trang phụ bìa

Lời cam đoan

Lời cảm ơn

Mục lục

Danh mục chữ viết tắt

Danh mục các bảng

Danh mục các biểu đồ

Danh mục các hình

ĐẶT VẤN ĐỀ 1

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN..... 3

1.1. Tình hình nhiễm vi rút viêm gan B mạn trên thế giới và Việt Nam 3

1.1.1. Tình hình trên thế giới 3

1.1.2. Tình hình tại Việt Nam 5

1.2. Đặc điểm vi rút viêm gan B 7

1.2.1. Cấu trúc của vi rút viêm gan B 7

1.2.2. Hệ gen của vi rút viêm gan B..... 8

1.2.3. Các kháng nguyên và kháng thể của vi rút viêm gan B..... 11

1.2.4. Kiểu gen của vi rút viêm gan B 13

1.3. Phương thức lây truyền của vi rút viêm gan B 14

1.3.1. Lây truyền vi rút viêm gan B qua máu..... 14

1.3.2. Lây truyền vi rút viêm gan B qua quan hệ tình dục 15

1.3.3. Lây truyền vi rút viêm gan B từ mẹ sang con 16

1.4. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của viêm gan vi rút B mạn..... 17

1.5. Các yếu tố ảnh hưởng đến tiến triển của bệnh 18

1.5.1. Tiến triển tự nhiên của nhiễm vi rút viêm gan B mạn 18

1.5.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến tiến triển của nhiễm vi rút viêm gan B
mạn..... 20

1.6. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị viêm gan vi rút B mạn.... 25

1.6.1. Mục tiêu điều trị..... 25

1.6.2. Chỉ định điều trị 25

1.6.3. Chiến lược điều trị thuốc kháng vi rút	26
1.6.4. Đặc điểm của thuốc entecavir và tenofovir	27
1.6.5. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị viêm gan vi rút B mạn.....	29
1.7. Kháng thuốc trong điều trị viêm gan vi rút B mạn	36
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	40
2.1. Đối tượng nghiên cứu	40
2.1.1. Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân.....	40
2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ	40
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	41
2.2.1. Thiết kế nghiên cứu.....	41
2.2.2. Địa điểm nghiên cứu	41
2.2.3. Thời gian nghiên cứu	41
2.2.4. Cỡ mẫu và cách chọn mẫu.....	41
2.2.5. Vật liệu nghiên cứu	41
2.2.6. Quy trình theo dõi bệnh nhân.....	42
2.2.7. Các kỹ thuật xét nghiệm	45
2.2.8. Một số định nghĩa dùng trong luận án	52
2.2.9. Các biến số và các chỉ số trong nghiên cứu	53
2.3. Phân tích số liệu	58
2.4. Đạo đức trong nghiên cứu.....	59
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	60
3.1. Đặc điểm dịch tễ và sinh học phân tử	60
3.1.1. Đặc điểm dịch tễ học.....	60
3.1.2. Đặc điểm sinh học phân tử	65
3.1.3. Mối liên quan giữa kiểu gen, HBV-ADN, đột biến PC/BCP của vi rút viêm gan B, tuổi và giới tính.....	69
3.2. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng	74
3.2.1. Đặc điểm lâm sàng	74
3.2.2. Đặc điểm cận lâm sàng.....	76
3.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị thuốc kháng vi rút	88
3.3.1. Đáp ứng điều trị và đột biến kháng thuốc sau 12 tháng điều trị	88

3.3.2. Phân tích đặc điểm trước điều trị của bệnh nhân theo đáp ứng vi rút.....	90
3.3.3. Phân tích yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị thuốc kháng vi rút.	94

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....100

4.1. Đặc điểm dịch tễ và sinh học phân tử của vi rút viêm gan B.....	100
4.2. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của viêm gan vi rút B mạn.....	108
4.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị thuốc kháng vi rút	119
Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị entecavir hoặc tenofovir..	123
4.3.1. Các yếu tố do vi rút viêm gan B	123
4.3.2. Các yếu tố do cơ thể bệnh nhân.....	129
4.4. Hạn chế của đề tài	131

KẾT LUẬN132

KHUYẾN NGHỊ.....134

ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN.....Error! Bookmark not defined.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

PHỤ LỤC

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Từ gốc tiếng Anh	Nghĩa tiếng Việt
A	Adenine	Nucleotit adenin
AASLD	American Association for the Study of Liver Diseases	Hiệp hội Gan mật Mỹ
ADV	Adefovir dipivoxil	Là một loại thuốc kháng vi rút
ALT	Alanin aminotransferase	
APASL	Asia Pacific Association for the Study of Liver	Hiệp hội Gan mật châu Á Thái Bình Dương
AST	Aspartat aminotransferase	
BCP	Basal Core Promoter	Vị trí kích hoạt phiên mã vùng nhân
BN		Bệnh nhân
cccDNA	Covalently Closed Circular DNA	
CI	Confidence Interval	Khoảng tin cậy
EASL	European Association for the Study of the Liver	Hiệp hội Gan mật châu Âu
ETV	Entecavir	Là một loại thuốc kháng vi rút
FDA	Food and Drug Administration	Cơ quan thuốc và thực phẩm
G	Guanine	Nucleotit guanin
HBV	Hepatitis B virus	Vi rút viêm gan B
HCV	Hepatitis C virus	Vi rút viêm gan C
HCC	Hepatocellular Carcinoma	Ung thư tế bào gan
IU	International Unit	Đơn vị quốc tế
KN		Kháng nguyên
KT		Kháng thể

LdT	Telbivudine	Là một loại thuốc kháng vi rút
LMV	Lamivudine	Là một loại thuốc kháng vi rút
Max	Maximum	Giá trị cao nhất
Mean		Giá trị trung bình
Min	Minimum	Giá trị thấp nhất
NA	Nucleos(t)ide Analogue	Dẫn chất nucleos(t)it
OR	Odd Ratio	Tỷ suất chênh
PC	Pre-core	Vùng gen tiền lõi
PCR	Polymerase Chain Reaction	Phản ứng chuỗi polymerase
RT	Reverse transcriptase	Men sao chép ngược
SD	Standard deviation	Độ lệch chuẩn
TDF	Tenofovir disoproxil fumarate	Là một loại thuốc kháng vi rút
T	Thymine	Nucleotit thymin
ULN	Upper limit of normal	Trên giới hạn bình thường
WHO	World Health Organization	Tổ chức Y tế Thế giới

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng	Nội dung	Trang
1.1	Phân bố nhiễm vi rút viêm gan B trên thế giới	4
1.2	Tỷ lệ nhiễm vi rút viêm gan B mạn tại Việt Nam	6
1.3	Phương thức lây truyền của vi rút viêm gan B và nguy cơ nhiễm trùng mạn theo tuổi	17
1.4	Kháng chéo của các chủng vi rút viêm gan B kháng thuốc	38
2.1	Đánh giá mức độ tuân thủ điều trị	43
2.2	Nội dung theo dõi bệnh nhân nghiên cứu	45
2.3	Giá trị bình thường các xét nghiệm sinh hóa	45
2.4	Giá trị bình thường các xét nghiệm huyết học	46
2.5	Trình tự môi khuếch đại và giải trình tự đoạn gen PC/BCP và gen P để xác định đột biến PC/BCP, kiểu gen và đột biến kháng thuốc	49
2.6	Các hóa chất và sinh phẩm xác định đột biến PC/BCP, kiểu gen và đột biến kháng thuốc	50
2.7	Các biến số và chỉ số trong nghiên cứu	54
3.1	Phân bố bệnh nhân theo tuổi	60
3.2	Phân bố bệnh nhân theo nghề nghiệp	61
3.3	Phân bố bệnh nhân theo địa dư	61
3.4	Phân bố bệnh nhân theo trình độ học vấn và tình trạng hôn nhân	62
3.5	Phân bố trình độ học vấn và tình trạng hôn nhân của bệnh nhân	62
3.6	Thời gian phát hiện nhiễm vi rút viêm gan B	63
3.7	Thời gian phát hiện nhiễm vi rút viêm gan B theo đơn vị hành chính ..	64
3.8	Thời gian phát hiện nhiễm vi rút viêm gan B theo nhóm tuổi	64
3.9	Tiền sử nhiễm vi rút viêm gan B và HCC trong gia đình	65
3.10	Tải lượng HBV-ADN	66
3.11	Tải lượng HBV-ADN theo kiểu gen của vi rút viêm gan B	66
3.12	Đột biến kháng thuốc của các chủng vi rút viêm gan B tự nhiên	69

3.13	Phân bố kiểu gen vi rút viêm gan B theo nhóm tuổi	69
3.14	Tải lượng HBV-ADN theo giới tính.....	71
3.15	Liên quan giữa đột biến PC/BCP, HBV-ADN theo HBeAg.....	73
3.16	Triệu chứng lâm sàng	74
3.17	Triệu chứng lâm sàng theo kiểu gen của vi rút viêm gan B	75
3.18	Xét nghiệm ALT và AST máu	76
3.19	Xét nghiệm albumin và bilirubin toàn phần theo kiểu gen	77
3.20	Xét nghiệm α FP máu theo kiểu gen của vi rút viêm gan B.....	78
3.21	Xét nghiệm tỷ lệ prothrombin, fibrinogen và tiểu cầu máu	79
3.22	Liên quan giữa đột biến PC/BCP với HBeAg ở kiểu gen C	86
3.23	Liên quan giữa đột biến PC/BCP với ALT trung bình và HBeAg.....	87
3.24	Đột biến kháng thuốc sau điều trị 12 tháng.....	89
3.25	Đặc điểm bệnh nhân trước điều trị theo đáp ứng vi rút.....	90
3.26	Đặc điểm vi rút viêm gan B trước điều trị theo đáp ứng vi rút	91
3.27	Đặc điểm vi rút viêm gan B trước điều trị theo đáp ứng vi rút với điều trị entecavir	92
3.28	Đặc điểm vi rút viêm gan B trước điều trị theo đáp ứng vi rút với điều trị tenofovir	93
3.29	Phân tích hồi quy logistic các yếu tố cơ thể bệnh nhân trước điều trị ảnh hưởng đến đáp ứng vi rút.....	94
3.30	Phân tích hồi quy logistic các yếu tố vi rút viêm gan B trước điều trị ảnh hưởng đến đáp ứng vi rút.....	95
3.31	Phân tích hồi quy logistic các yếu tố cơ thể bệnh nhân ảnh hưởng đến đáp ứng huyết thanh HBeAg	96
3.32	Phân tích hồi quy logistic các yếu tố vi rút viêm gan B trước điều trị ảnh hưởng đến đáp ứng huyết thanh HBeAg	97
3.33	Phân tích hồi quy logistic các yếu tố cơ thể bệnh nhân trước điều trị..	98
3.34	Phân tích hồi quy logistic các yếu tố vi rút viêm gan B trước điều trị.	99

DANH MỤC CÁC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ	Nội dung	Trang
3.1	Phân bố theo giới tính	60
3.2	Tiền sử tiêm phòng vắc xin viêm gan B, điều trị y học cổ truyền và uống rượu	63
3.3	Phân bố kiểu gen của vi rút viêm gan B theo giới tính.....	70
3.4	Tải lượng HBV-ADN theo nhóm tuổi	70
3.5	Liên quan đột biến PC/BCP với tuổi trung bình.....	71
3.6	Phân bố đột biến PC/BCP theo nhóm tuổi.....	72
3.7	Liên quan giữa đột biến PC/BCP với giới tính	72
3.8	Liên quan giữa đột biến PC/BCP với tải lượng HBV-ADN.....	73
3.9	Xét nghiệm ALT theo kiểu gen của vi rút viêm gan B.....	76
3.10	Xét nghiệm AST theo kiểu gen của vi rút viêm gan B.....	77
3.11	Xét nghiệm HBeAg và anti-HBe máu	80
3.12	Tình trạng HBeAg [A] và anti-HBe [B] theo kiểu gen của vi rút viêm gan B	80
3.13	Phân bố ALT theo nhóm tuổi.....	81
3.14	Phân bố AST theo nhóm tuổi.....	81
3.15	Phân bố albumin máu theo nhóm tuổi	82
3.16	Phân bố bilirubin toàn phần theo nhóm tuổi.....	82
3.17	Phân bố α FP máu theo nhóm tuổi.....	83
3.18	Phân bố số lượng tiểu cầu máu theo nhóm tuổi.....	83
3.19	Phân bố tỷ lệ prothrombin máu theo nhóm tuổi	84
3.20	Phân bố fibrinogen theo nhóm tuổi.....	84
3.21	Phân bố HBeAg, anti-HBe theo nhóm tuổi	85
3.22	Liên quan giữa HBeAg với đột biến PC/BCP	85
3.23	Liên quan giữa đột biến PC/BCP với HBeAg ở kiểu gen B..	86
3.24	Liên quan đột biến PC/BCP với ALT trung bình	87
3.25	Hiệu quả điều trị thuốc kháng vi rút	88
3.26	Tỷ lệ bùng phát vi rút.....	89

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình	Nội dung	Trang
1.1	Phân bố tỷ lệ nhiễm vi rút viêm gan B trên thế giới (2006).....	3
1.2	Vi rút viêm gan B dưới kính hiển vi điện tử	8
1.3	Gen cấu trúc và những yếu tố điều tiết của vi rút viêm gan B [A] và đột biến của vi rút viêm gan B [B]	10
1.4	Cấu trúc của polymerase	11
1.5	Phân bố kiểu gen vi rút viêm gan B trên thế giới.....	14
1.6	Các giai đoạn nhiễm vi rút viêm gan B	19
1.7	Các yếu tố ảnh hưởng đến tiến triển viêm gan vi rút B mạn.....	21
1.8	Sự phối hợp của các đột biến kháng thuốc	37
2.1	Sơ đồ thiết kế nghiên cứu	44
3.1	Xét nghiệm kiểu gen của vi rút viêm gan B	65
3.2	Đột biến PC/BCP	67
3.3	Phân bố các đột biến PC/BCP	67
3.4	Đột biến PC/BCP theo kiểu gen của vi rút viêm gan B	68

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm gan vi rút B vẫn còn là bệnh truyền nhiễm rất phổ biến, nguy hiểm và là vấn đề sức khỏe mang tính toàn cầu. Theo báo cáo của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO: World Health Organization) năm 2012, 3/4 dân số trên thế giới sống trong vùng có tỷ lệ nhiễm vi rút viêm gan B (HBV: Hepatitis B virus) trên 2%, ước tính có hơn 2 tỷ người đã nhiễm HBV và khoảng 240 triệu người nhiễm HBV mạn [162].

Viêm gan vi rút B mạn có thể tiến triển đến xơ gan, ung thư tế bào gan (HCC: Hepatocellular carcinoma) và tử vong. Hàng năm trên thế giới có khoảng 500 - 700 nghìn người tử vong vì hậu quả của nhiễm HBV [162]. Nhiều tiến bộ khoa học kỹ thuật đã được ứng dụng trong chẩn đoán và hỗ trợ điều trị viêm gan vi rút B mạn như định lượng HBV-ADN, kiểu gen HBV, đột biến vùng PC/BCP (pre-core/basal core promoter) và đột biến kháng thuốc. Hiện nay 10 kiểu gen HBV đã được xác định, những ảnh hưởng của kiểu gen HBV, đột biến PC/BCP đến các biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng và hiệu quả điều trị thuốc kháng vi rút loại dẫn chất nucleos(t)it (NA: Nucleos(t)ide Analogue) còn nhiều ý kiến khác nhau [98]. Các nghiên cứu trên thế giới chỉ ra rằng có mối liên quan giữa các đột biến PC/BCP với kiểu gen HBV [99],[115] và phát hiện đột biến kháng thuốc ở chủng HBV tự nhiên [111],[132].

Các biện pháp điều trị viêm gan vi rút B mạn nhằm ức chế sự nhân lên của HBV và hạn chế các hậu quả của bệnh. Nhiều thuốc kháng vi rút loại NA đã được sử dụng, trong đó entecavir (ETV) và tenofovir disoproxil fumarate (TDF) là thuốc ưu tiên lựa chọn trước tiên trong điều trị viêm gan vi rút B mạn chưa điều trị hiện nay [52],[102]. Trong những năm gần đây, các tác giả trên thế giới công bố hiệu quả điều trị, tỷ lệ kháng thuốc rất khác nhau và các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị như HBV, cơ địa người bệnh [30],[31],[46],[91],[109]. Những yếu tố do HBV như tải lượng HBV-ADN, tình trạng HBeAg, đột biến kháng thuốc tự nhiên... có vai trò quan trọng trong chỉ định điều trị, dự báo hiệu quả điều trị và sự thay đổi tải lượng HBV-ADN trong quá trình điều trị có tác dụng trong việc quyết định tiếp tục điều trị hoặc chuyển liệu pháp khác [41],[47],[53].

Việt Nam là nước trong vùng có lưu hành HBV cao, tỷ lệ người mang HBsAg (Hepatitis B surface Antigen: Kháng nguyên bề mặt của HBV) từ 8 - 30% [117],

với đường lây truyền chính là từ mẹ sang con nên tỷ lệ chuyển thành mạn tính cao, có nguy cơ tiến triển thành xơ gan và HCC [12]. Các triệu chứng của viêm gan vi rút B mạn thường nhẹ, không điển hình nên đa số bệnh nhân (BN) không phát hiện bệnh sớm và thường để lại những hậu quả nghiêm trọng.

Các nghiên cứu gần đây về sinh học phân tử của HBV nhận thấy 2 kiểu gen phổ biến tại Việt Nam là kiểu gen B và C [9],[15]. Các tác giả cũng đã xác định đột biến vùng gen PC/BCP ở BN nhiễm HBV với tỷ lệ khác nhau [6],[11]. Sau khi FDA (Food and Drug Administration: Cơ quan thuốc và thực phẩm) - Hoa Kỳ cho phép sử dụng ETV (2005) và TDF (2008) điều trị viêm gan vi rút B mạn, các thuốc này đã được điều trị tại Việt Nam theo hướng dẫn của các Hiệp hội Gan mật quốc tế [53],[95],[102]. Một số nghiên cứu đã đánh giá hiệu quả điều trị viêm gan vi rút B mạn bằng ETV và TDF [5],[8],[10],[11], tuy nhiên chưa đi sâu phân tích yếu tố ảnh hưởng và tỷ lệ đột biến kháng thuốc của HBV. Nghiên cứu dịch tễ, sinh học phân tử và hiệu quả điều trị thuốc kháng vi rút trên BN viêm gan vi rút B mạn tại Việt Nam tuy số lượng tăng trong thời gian gần đây nhưng còn hạn chế, nếu so sánh với số lượng người nhiễm HBV mạn hiện nay tại Việt Nam thì thực sự chưa đáng kể. Bên cạnh đó việc có được thêm những hiểu biết về đặc điểm dịch tễ, sinh học phân tử, cận lâm sàng và các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị thuốc kháng vi rút là vô cùng cần thiết để giúp các bác sĩ lâm sàng trong việc lập kế hoạch, định hướng và tiên lượng điều trị góp phần thiết thực chăm sóc sức khỏe người bệnh. Chính vì những lý do nêu trên chúng tôi tiến hành nghiên cứu ***“Đặc điểm dịch tễ, sinh học phân tử, lâm sàng, cận lâm sàng và yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị viêm gan vi rút B mạn bằng thuốc kháng vi rút”*** với ba mục tiêu sau:

MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU:

- 1. Mô tả một số đặc điểm dịch tễ, sinh học phân tử của bệnh viêm gan vi rút B mạn ở bệnh nhân điều trị tại bệnh viện Bạch Mai (2010 – 2014).**
- 2. Mô tả đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh viêm gan vi rút B mạn ở bệnh nhân điều trị tại bệnh viện Bạch Mai (2010 – 2014).**
- 3. Xác định một số yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị của thuốc kháng vi rút ở bệnh nhân viêm gan vi rút B mạn.**

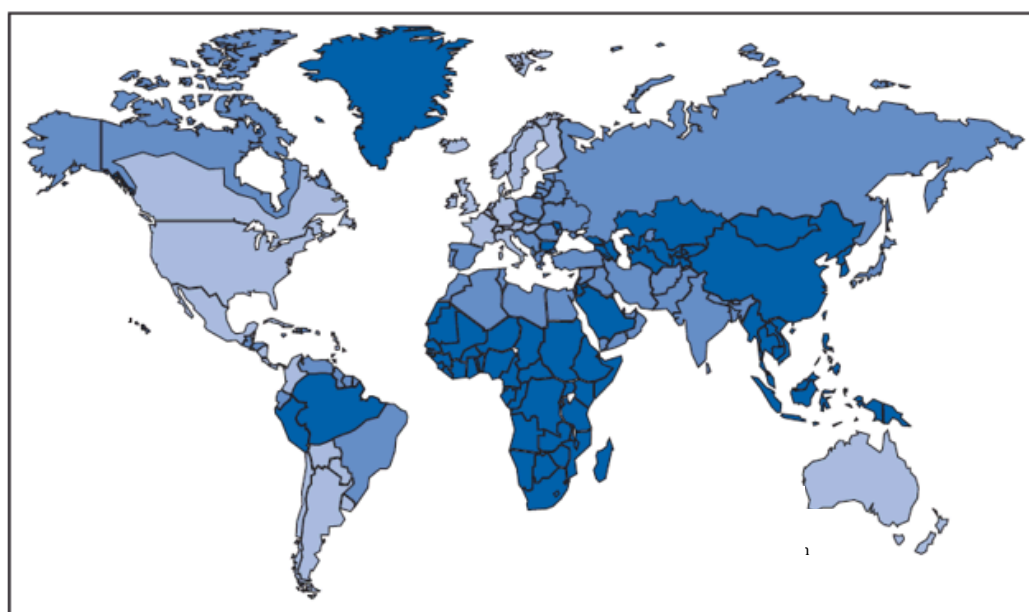
CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN

1.1. Tình hình nhiễm vi rút viêm gan B mạn trên thế giới và Việt Nam

1.1.1. Tình hình trên thế giới

Viêm gan vi rút B mạn là bệnh truyền nhiễm có ở khắp nơi trên thế giới và HBV là nguyên nhân thường gặp nhất trong số những vi rút gây bệnh gan mạn ở người. Tỷ lệ nhiễm HBV và mô hình lây truyền khác nhau trên thế giới theo các nhóm dân cư khác nhau, bị ảnh hưởng chủ yếu bởi lứa tuổi chiếm đa số tại nơi xảy ra nhiễm trùng. Theo thống kê của WHO (2012), ước tính có khoảng 50 triệu người nhiễm HBV mới hàng năm và trên toàn thế giới có khoảng 500 - 700 nghìn người tử vong mỗi năm vì hậu quả của bệnh như suy gan cấp, xơ gan và HCC...[162].



Tỷ lệ HBsAg (+): ■ ≥ 8% - Cao ■ 2 - 7% - Trung bình ■ < 2% - Thấp

Hình 1.1: Phân bố tỷ lệ nhiễm vi rút viêm gan B trên thế giới (2006) [157]

Vi rút viêm gan B là nguyên nhân của 60 - 80% HCC trên toàn thế giới và là 1 trong 3 nguyên nhân gây tử vong ở châu Phi, châu Á.... Tỷ lệ nhiễm HBV trên thế giới thay đổi từ 0,1% ở vùng lưu hành thấp đến 20% ở vùng lưu hành cao, theo từng khu vực địa lý và quần thể dân cư [110]. Những nơi trên thế giới được coi là lưu

hành HBV cao khi ít nhất 8% dân số có HBsAg dương tính. Trong các khu vực này 70 - 90% dân số thường có bằng chứng huyết thanh của nhiễm HBV trước đó. Sự khác biệt thể hiện ở tỷ lệ nhiễm HBV, tuổi và phương thức lây truyền HBV chủ yếu. Tỷ lệ nhiễm HBsAg thay đổi giữa các nước khác nhau. Ở những nước phát triển, tỷ lệ HBsAg dương tính cao ở những người di cư đến từ những nước có tỷ lệ cao và trung bình hoặc những người có hành vi nguy cơ cao. Sự phân bố nhiễm HBV được xác định bằng các mức độ dịch lưu hành.

Bảng 1.1: Phân bố nhiễm vi rút viêm gan B trên thế giới [29],[103]

	Tỷ lệ nhiễm vi rút viêm gan B		
	Cao	Trung bình	Thấp
Tỷ lệ nhiễm	8 - 20%	3 - 7%	0,1 - 2%
Phân bố địa lý	Đông Nam Á, Trung Quốc, Quần đảo Thái Bình Dương, Châu Phi cận sa mạc Sahara, Alaska	Khu vực Địa Trung Hải, Đông Âu, Trung Á, Nhật Bản, Nam Mỹ và Mỹ La Tinh, Trung Đông	Hoa Kỳ và Canada, Tây Âu, Úc, New Zealand
Tuổi chủ yếu nhiễm trùng	Sơ sinh và trẻ nhỏ	Trẻ nhỏ	Người lớn
Phương thức lây truyền chủ yếu	Mẹ sang con Máu	Tình dục Máu	Tình dục Máu

Vùng dịch lưu hành cao ($\geq 8\%$): Chủ yếu ở Trung Quốc, Đông Nam Á, Châu Phi cận sa mạc Sahara, quần đảo Thái Bình Dương....[88]. Lây truyền HBV trong khu vực này chủ yếu là lây truyền từ mẹ sang con, chiếm 40 - 50% nhiễm HBV mạn, tuy nhiên lây truyền ngang có thể xảy ra khi trẻ dưới 2 tuổi.

Vùng dịch lưu hành trung bình (2 - 7%): Vùng Địa Trung Hải, Nam Âu, Bắc Mỹ, Đông Âu (gồm cả Nga), Trung Đông, Trung Á, Nhật Bản, Ấn Độ, một phần Nam và Trung Mỹ vv... [88]. Lây truyền chủ yếu tại những nơi này xảy ra ở mọi lứa tuổi nhưng nhiễm ở trẻ nhỏ chiếm đa số trường hợp nhiễm HBV mạn.

Vùng dịch lưu hành thấp (<2%) ở các nước ở Tây Âu, Bắc Mỹ, Châu Úc, New Zealand vv... và lây truyền chủ yếu ở người lớn do quan hệ tình dục không an toàn, tiêm chích ma túy... [88].

Lứa tuổi nhiễm HBV có tác động lớn đến tiến triển lâm sàng, nguy cơ tiến triển thành mạn, tuổi càng nhỏ thì nhiễm HBV tiến triển thành viêm gan mạn càng cao như nhiễm HBV xảy ra ở trẻ sơ sinh có 90% chuyển thành mạn, từ 1 - 5 tuổi có 25 - 50% chuyển thành mạn và 5% chuyển thành mạn khi nhiễm ở người lớn [103].

1.1.2. Tình hình tại Việt Nam

Việt Nam là nước có tỷ lệ nhiễm HBV cao trên thế giới và nhiễm HBV vẫn còn là vấn đề y tế quan trọng. Nhiều nghiên cứu cho thấy tỷ lệ nhiễm HBV hiện tại (HBsAg dương tính) thay đổi từ 8% đến 30% trong dân số nói chung và 20% đến 40% trong nhóm người tiêm chích ma túy, người nhiễm HIV [13],[117]. Tuy nhiên dự phòng và kiểm soát HBV tại Việt Nam chủ yếu dựa vào chương trình tiêm chủng mở rộng cho trẻ em và sàng lọc HBsAg đối với người cho máu. Một số nghiên cứu về tỷ lệ nhiễm HBV trong nhóm người có nguy cơ cao bao gồm nhân viên y tế, người cho máu, tiêm chích ma túy, BN có hoặc không có bệnh gan với khoảng 12 - 18% nhân viên y tế có HBsAg dương tính [13]. Tuy nhiên Việt Nam nằm trong vùng lưu hành cao, chủ yếu lây truyền theo chiều dọc hoặc lây nhiễm ở trẻ em có nghĩa là nhiều nhân viên y tế đã bị nhiễm HBV trước khi làm việc trong các cơ sở y tế. Tỷ lệ HBsAg dương tính ở những người cho máu tình nguyện cũng tương tự như trong dân số nói chung từ 11,5 - 18,2% [62]. Ở những BN xơ gan hoặc HCC khoảng 80% BN có HBsAg dương tính [12]. Những con số này chỉ ra rằng HBV vẫn là nguyên nhân chính gây bệnh gan ở Việt Nam.

Trong một nghiên cứu lớn gần đây tiến hành xét nghiệm máu cho tất cả các BN tại 12 bệnh viện ở Việt Nam từ 2005 - 2008 (loại trừ những BN thuộc nhóm nguy cơ cao nhiễm HBV, HCV và HIV) (HCV: Hepatitis C virus - Vi rút viêm gan C) tỷ lệ HBsAg dương tính là 12%. Vì vậy loại trừ những người thuộc nhóm nguy cơ cao, ước tính tại Việt Nam có khoảng 10 triệu người đang sống chung với viêm gan vi rút B mạn. Tỷ lệ mắc viêm gan vi rút B mạn cao cả ở khu vực nông thôn và thành

phổ, với tỷ lệ ước tính 10 - 14% ở thành phố Hồ Chí Minh và Hà Nội [147], cao 18,8% tới 19% ở một số khu vực nông thôn [61],[115]. Khi xác định lứa tuổi nhiễm HBV, các tác giả nhận thấy tỷ lệ nhiễm HBV cao nhất ở nhóm 30 - 39 tuổi (19,3% nam giới và 14% nữ giới), tiếp theo là nhóm 40 - 49 tuổi (nam 18,6% và nữ 13,4%).

Bảng 1.2: Tỷ lệ nhiễm vi rút viêm gan B mạn tại Việt Nam

Tác giả	Quần thể nghiên cứu	Nhiễm HBV mạn
Trần Thiệu Tuấn Huy và cộng sự, 2003 [147]	Đô thị thành phố (TP) Hồ Chí Minh, nhóm nguy cơ thấp và cao	Nguy cơ thấp: 10% Nguy cơ cao: 31,2%
Nakata S và cộng sự, 1994 [114]	Đô thị TP Hồ Chí Minh, nhóm nguy cơ thấp và cao	10 - 14%
Hipgrave DB và cộng sự, 2003 [61]	Nông thôn tỉnh Thanh Hóa	Sơ sinh: 12,5%; Trẻ em: 18,4%; Thanh thiếu niên: 20,5% và người lớn: 18,8%
Nguyễn Thị Thúy Vân và cộng sự, 2007 [117]	Nông thôn tỉnh Thái Bình	19%
Thái Hồng Dương và cộng sự, 2009 [49]	Nông thôn tỉnh Thái Nguyên	8,8%
Kakumu S và cộng sự, 1998 [71]	Đô thị TP Hồ Chí Minh, nhóm nguy cơ cao. Nông thôn TP Đà Lạt, nhóm nguy cơ thấp	Nguy cơ thấp: 5,7% Nguy cơ cao: 46,6%

Tỷ lệ nhiễm HBV cao ở Việt Nam do nhiều nguyên nhân. Nhiều người trong cộng đồng và nhân viên y tế chưa hiểu biết về những nguy cơ và hậu quả của nhiễm HBV không được điều trị, sự cần thiết phải tiêm phòng vắc xin HBV cho người không bị nhiễm. Thậm chí họ cũng không biết có nhiều phương pháp điều trị an toàn và hiệu quả cho những BN chẩn đoán viêm gan vi rút B mạn. Tại Việt Nam để giảm tỷ lệ nhiễm HBV cần có chương trình quốc gia bao gồm giáo dục, sàng lọc thích hợp, tiêm phòng vắc xin và điều trị. Nhân viên y tế cần biết về tỷ lệ nhiễm HBV

cao, sự cần thiết sàng lọc, tiêm phòng vắc xin và hiệu quả điều trị viêm gan vi rút B mạn.

Hiện nay ETV và TDF là những thuốc kháng vi rút loại NA được AASLD (American Association for the Study of Liver Diseases - Hiệp hội Gan mật Mỹ), EASL (European Association for the Study of Liver - Hiệp hội Gan mật châu Âu) và APASL (Asia Pacific Association for the Study of Liver - Hiệp hội Gan mật châu Á Thái Bình Dương) khuyến cáo lựa chọn đầu tiên trong điều trị viêm gan vi rút B mạn chưa điều trị thuốc kháng vi rút [53],[95],[102]. Tại Việt Nam, ETV và TDF được chỉ định điều trị viêm gan vi rút B mạn những năm đầu của thế kỷ này. Hiệu quả, tính an toàn của thuốc đã được nhiều tác giả nghiên cứu và đánh giá. Nghiên cứu của tác giả Nguyễn Mạnh Đức điều trị ETV cho 51 BN viêm gan vi rút B mạn chưa được điều trị thuốc kháng vi rút trong đó có 30 BN HBeAg dương tính nhận thấy đáp ứng vi rút sau 12 tháng là 74,5% (80% với BN HBeAg dương tính và 66,7% với BN HBeAg âm tính), tỷ lệ đáp ứng sinh hóa sau 12 tháng điều trị là 88,2% trong đó 90% với HBeAg dương tính và 85,7% với HBeAg âm tính, tỷ lệ chuyển đảo huyết thanh HBeAg là 26,7% [5]. Nghiên cứu của tác giả Trịnh Thị Ngọc và cộng sự điều trị 99 BN viêm gan vi rút B mạn bằng TDF sau 12 tháng, tỷ lệ đáp ứng sinh hóa là 95,6% và đáp ứng vi rút là 85,1% [10].

1.2. Đặc điểm vi rút viêm gan B

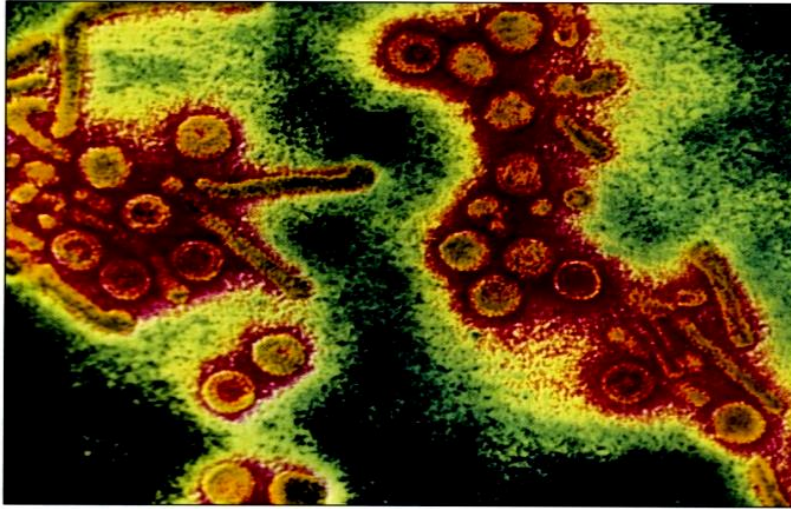
Năm 1965, Blumberg và cộng sự đã phát hiện ra kháng nguyên bề mặt HBV trong khi nghiên cứu huyết thanh người người thổ dân Úc mắc bệnh máu gọi là kháng nguyên Au [23]. Năm 1970, dưới kính hiển vi điện tử, Dane đã mô tả hạt HBV hoàn chỉnh gọi là thể Dane và năm 1973, WHO đổi tên kháng nguyên Au thành kháng nguyên bề mặt HBV gọi là HBsAg [45].

1.2.1. Cấu trúc của vi rút viêm gan B

HBV thuộc họ *Hepadnaviridae*, có cấu trúc ADN được cấu tạo bởi 3200 đôi axit nucleic, trọng lượng phân tử 2×10^6 dalton. Dưới kính hiển vi điện tử HBV có 3 kiểu cấu trúc (Hình 1.2).

- Hạt Dane hay virion hoàn chỉnh có đường kính khoảng 42 nm bao gồm 3 lớp: Lớp vỏ bọc bên ngoài (bao ngoài) là HBsAg, vỏ capsid là một nucleocapsit được cấu

tạo từ KN lõi (Hepatitis B core antigen: HBcAg) và lớp trong cùng có chứa cấu trúc ADN chuỗi đôi, các men như ADN polymerase, protein kinase vv.. [105].



Hình 1.2: Vi rút viêm gan B dưới kính hiển vi điện tử [84]

- Các cấu trúc hình cầu và các cấu trúc hình ống cùng có đường kính khoảng 22 nm nhưng chiều dài thay đổi (từ 40 - 400 nm) [84],[105].

1.2.2. Hệ gen của vi rút viêm gan B

- Cấu trúc bộ gen của vi rút viêm gan B

Dưới kính hiển vi điện tử, HBV-ADN hình vòng, mạch kép không hoàn chỉnh, có chiều dài khoảng 3200 nucleotit (3,2 kd), gồm có 2 chuỗi ADN: Chuỗi dài nằm ngoài, cực tính âm tạo nên 1 vòng tròn liên tục chiều dài cố định là 3,2 kd và mã hóa cho các thông tin di truyền của vi rút. Chuỗi ngắn nằm trong có cực tính dương với chiều dài thay đổi [84],[105].

Bộ gen đầy đủ xuất hiện qua trung gian sao chép ngược ARN. Ban đầu hiện tượng sao chép ngược ở đầu tận cùng 5' của chuỗi âm có liên quan đồng hóa trị với phần hydroxyl còn lại của tyrosin ở vị trí N của polymerase vi rút. Cấu trúc của vi rút được liên kết bởi cặp bazơ của chuỗi ADN âm và dương, ở mỗi chuỗi dương cầu nối không liên tục giữa đầu tận cùng 5' và 3' của chuỗi âm.

Ở đầu tận cùng 5' của chuỗi dương nối với chiều dài 18 nucleotit, được gắn chóp theo cùng 1 cách như ARN thông tin (mARN), với mỗi mối tương ứng với sự tổng hợp sợi ADN thứ 2.

Đầu tận cùng 3' của chuỗi ADN dương thay đổi, nó chứa 1 lỗ hồng mạch đơn từ 600 - 2000 nucleotit ở cấu trúc cơ bản của vi rút hoàn chỉnh và giải phóng vi rút.

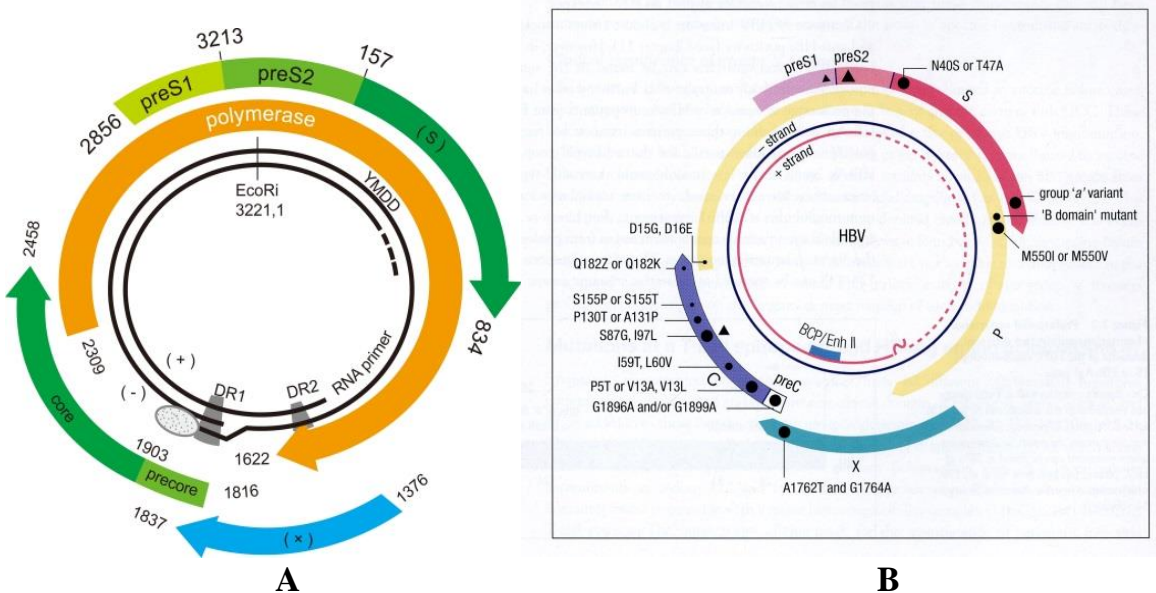
Thứ tự của các nucleotit được đánh số từ 1, tương ứng với vị trí EcoRI. Chiều dài của bộ gen thay đổi tùy theo các phân týp khác nhau [73],[84].

- Chỉ có chuỗi ADN âm mới được mã hóa. Gen của HBV mã hóa 4 khung đọc mở (ORF: Open reading frame) nằm trên sợi này là vùng mã hóa để tổng hợp các protein của HBV (S, C, P và X). Các vùng gen này có đặc điểm là gối lên nhau, có thể gối toàn bộ như giữa vùng gen S và P hoặc 1 phần như gen X và P hoặc giữa vùng gen C và P. Chính các vùng gen mã hóa nằm gối lên nhau có thể tổng hợp nhiều protein quan trọng của HBV. Quá trình mã hóa được bắt đầu từ bộ 3 nucleotit AUG được gọi là mã khởi đầu (start codon) và chấm dứt bằng mã kết thúc (stop codon) là TAG [84],[105].

Cấu trúc gen S gồm từ nucleotit 2848 đến 833. Vùng gen này mã hóa để tổng hợp protein của HBsAg gồm 3 vùng gen preS1, preS2 và S. Vùng S và preS2 có chiều dài cố định trong khi đó vùng preS1 có chiều dài thay đổi tùy theo từng phân týp. Đoạn gen S tổng hợp nên protein S (small) có chiều dài 25 kd gồm 226 axit amin (aa), đoạn gen S và preS2 tổng hợp nên protein M (Medium) có chiều dài 31 kd gồm 281 aa và đoạn gen S, preS1 và preS2 tổng hợp nên protein L (Large) có chiều dài 39 kd gồm 389 - 400 aa. Cả 3 loại protein này xuất hiện với số lượng khác nhau trên bề mặt của virion trong đó protein S chiếm đa số [hình 1.3] [84],[105].

Cấu trúc gen C: Gen C mã hóa cho 2 loại protein là HBeAg và HBcAg. Protein của HBcAg do đoạn gen PC và nhân (core: C) tổng hợp. Ở đầu 5' của gen C có 2 mã khởi đầu cho quá trình đọc mã. Trình tự nucleotit nằm giữa 2 mã này gọi là vùng PC. Nếu quá trình đọc mã được bắt đầu từ mã AUG thứ nhất ở vị trí 1814 và đọc suốt chiều dài của đoạn gen PC và C sẽ tổng hợp nên HBeAg. Các nucleotit đầu

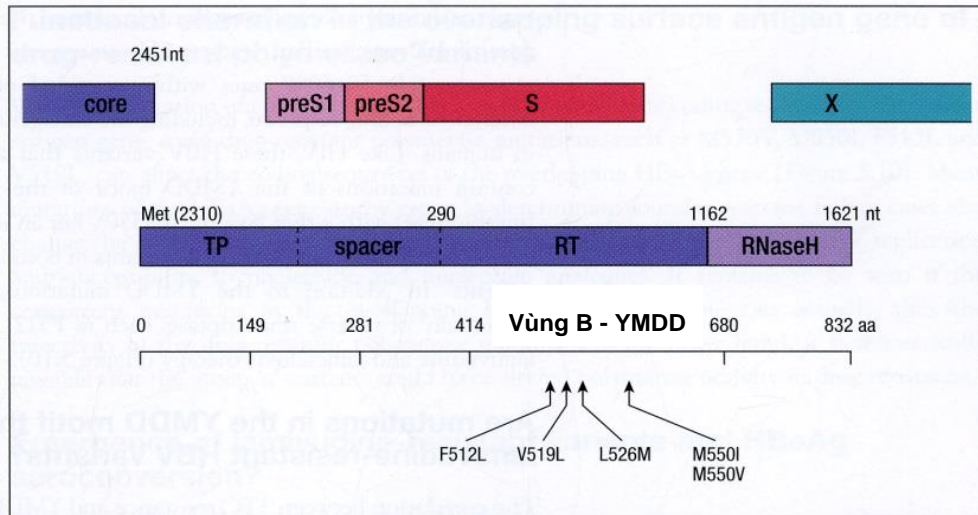
tiên của vùng PC sẽ mã hóa cho việc tạo ra một đoạn peptit gồm 19 aa gọi là peptit tín hiệu. Peptit này giúp cho HBeAg được bài tiết qua hệ thống lưới nội bào tương của tế bào gan, đồng thời cũng giúp cho KN hòa tan trong huyết thanh. Nếu quá trình đọc mã bắt đầu từ AUG thứ 2 ở vị trí 1901 và dịch chuyển hết gen C sẽ tổng hợp HBcAg. HBcAg không có đoạn peptit tín hiệu nên không được bài tiết ra khỏi tế bào gan. Vì vậy HBcAg không có trong huyết thanh và chỉ phát hiện khi sinh thiết gan. Một số trường hợp xảy ra đột biến ở vùng PC tại vị trí nucleotit 1896, G được thay thế bằng A tạo nên mã kết thúc TAG. Chính mã này đã kết thúc quá trình giải mã của vùng PC cho nên ngừng tổng hợp HBeAg nhưng tổng hợp HBcAg không bị ảnh hưởng cho nên HBV vẫn tiếp tục nhân lên và tạo phần lõi [84],[105].



Hình 1.3: Gen cấu trúc và những yếu tố điều tiết của vi rút viêm gan B [A] và đột biến của vi rút viêm gan B [B] [73],[84]

Cấu trúc gen P: Gen P từ nucleotit 2357 đến 1621 chứa các thông tin di truyền mã hóa ADN polymerase của HBV. Polymerase do gen P tổng hợp, chiếm 80% chiều dài của bộ gen, có chiều dài 90 kd gồm 845 aa. Sản phẩm của gen này vừa có hoạt tính ADN polymerase phụ thuộc ARN vừa có hoạt tính ADN polymerase phụ thuộc ADN. ADN polymerase để tổng hợp ADN mới từ ARN tiền genom (pregenome) mà sợi ARN tiền genom này được tạo ra từ khuôn mẫu là ADN của HBV dưới tác dụng của ARN polymerase của tế bào gan [84],[105].

Cấu trúc gen X: Protein có tác dụng chuyển hoạt hóa do gen X tổng hợp (hình 1.3). Gen X mã hóa cho một polypeptit có khoảng 145 - 154 aa tùy theo từng phân týp.



Hình 1.4: Cấu trúc của polymerase [84]

- Cấu trúc và chức năng của ADN polymerase của HBV

Gen P mã hóa để tổng hợp nên ADN polymerase của vi rút. Cấu trúc của men bao gồm (hình 1.4) [84],[105].

Ở đầu N-tận cùng men polymerase của vi rút có 1 aa là tyrosine tương đối hằng định, được sử dụng làm chất mồi để khởi phát quá trình tổng hợp ADN của vi rút.

Vùng “khoảng trống” (space) có trình tự rất thay đổi, giúp cho men không bị thay đổi chức năng khi có đột biến xảy ra.

Vùng có hoạt tính men sao chép ngược (RT: Reverse transcriptase) bao gồm một trình tự các aa tương đối hằng định đó là tyrosin-methionin-asparagin-asparagin (viết tắt là YMDD).

Ở đầu C-tận cùng là vùng của men ribonuclease H (Rnase H) có chức năng làm thoát biến khuôn ARN trong lúc tổng hợp sợi ADN âm [84],[105].

1.2.3. Các kháng nguyên và kháng thể của vi rút viêm gan B

- HBsAg và anti-HBs

HBsAg là KN bề mặt của HBV, nồng độ cao nhất khi xuất hiện các dấu hiệu lâm sàng rồi giảm dần và có thể mất sau 4 - 8 tuần kể từ khi có triệu chứng. Nếu HBsAg dương tính trên 6 tháng sẽ chuyển thành nhiễm HBV mạn. HBsAg có thể tồn tại nhiều

năm hoặc suốt đời. Trong một số trường hợp viêm gan vi rút B mạn mà HBsAg âm tính gọi viêm gan vi rút B mạn thể ẩn hay đột biến thoát. HBsAg huyết thanh có mối tương quan với cccDNA (Covalently closed circular DNA) trong nhân tế bào gan.

Anti-HBs là kháng thể (KT) được hình thành để kháng lại HBsAg, xuất hiện muộn, trong thời kỳ bình phục 2 - 16 tuần, thường sau khi mất HBsAg. Khi anti-HBs xuất hiện đó là dấu hiệu bệnh được hồi phục, có tác dụng chống tái nhiễm HBV và là KT duy nhất xuất hiện sau khi tiêm vaxcin phòng HBV [105].

- HBeAg và anti-HBe

HBeAg là một trong dấu ấn đánh giá sự nhân lên của HBV, liên quan đến tình trạng nhân lên và mức độ nặng của bệnh. HBeAg xuất hiện đầu tiên khi HBsAg bắt đầu được phát hiện trong máu và mất đi trước khi HBsAg mất [105].

Anti-HBe là KT xuất hiện khi HBeAg mất đi, có thể trong thời gian ngắn tồn tại song song cả 2 dấu ấn này, HBeAg dương tính trên 12 tuần được xem như nhiễm HBV mạn. Một số BN có hiện tượng HBV nhân lên và tổn thương tế bào gan nhưng HBeAg âm tính là do hiện tượng đột biến PC/BCP [75],[105].

- HBcAg và anti-HBc

HBcAg là KN lõi của HBV và chỉ có ở trong tế bào gan bị nhiễm HBV, không phát hiện trong huyết thanh BN.

Anti-HBc là kháng thể được hình thành khi cơ thể bị nhiễm HBV. Có 2 loại anti-HBc là: anti-HBc IgM xuất hiện sớm trong những tuần đầu của bệnh, anti-HBc IgG xuất hiện muộn nhưng tồn tại lâu hơn. Sự có mặt của anti-HBc không có tác dụng bảo vệ chống tái nhiễm HBV [84],[105].

- Tải lượng HBV-ADN huyết thanh

Xét nghiệm tải lượng HBV-ADN trong huyết thanh là có vai trò quan trọng trong chẩn đoán và hỗ trợ điều trị BN viêm gan vi rút B mạn, là xét nghiệm chính xác đánh giá sự tồn tại và nhân lên của HBV nhất là khi có sự đột biến PC của HBV làm cho HBeAg âm tính nhưng HBV vẫn hoạt động. Mức độ HBV-ADN trong

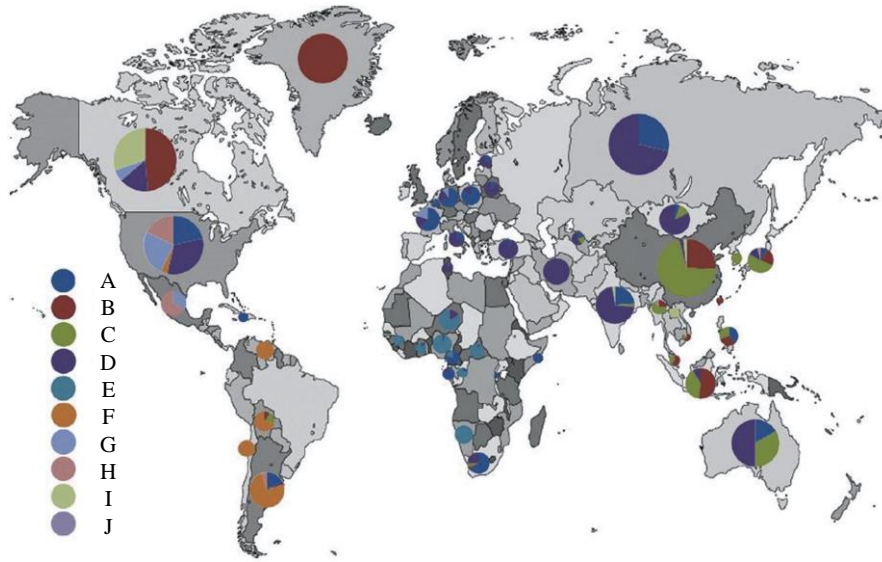
huyết thanh đánh giá trực tiếp sự sao chép của HBV, là một trong các yếu tố dự báo tổn thương gan tiến triển cũng như đáp ứng với điều trị [105].

1.2.4. Kiểu gen của vi rút viêm gan B

Tiêu chuẩn để phân loại HBV là dựa trên sự khác nhau của chuỗi trong toàn bộ gen của HBV và đến nay đã xác định HBV ở người có 10 kiểu gen được đặt tên từ A đến J [98]. Một số kiểu gen HBV được tiếp tục phân loại dưới kiểu gen (subtyp). Khi trình tự bộ gen HBV khác nhau trên 8% nucleotit được phân loại kiểu gen và 4 - 8% được phân loại dưới kiểu gen. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy kiểu gen, dưới kiểu gen có phân bố địa lý khác nhau, liên quan đến tiến triển của bệnh, đáp ứng điều trị thuốc kháng vi rút và tiên lượng. Kiểu gen A, B, C, D và F được phân chia thành nhiều dưới kiểu gen nhưng không có các dưới kiểu gen cho các kiểu gen E, G, H. Kiểu gen A chủ yếu ở châu Phi cận sa mạc Sahara, Bắc Âu và Tây Phi, kiểu gen B và C phổ biến ở châu Á, trong đó kiểu gen C phát hiện chủ yếu ở Đông Nam Á, kiểu gen D chủ yếu ở châu Phi, châu Âu, các nước Địa Trung Hải và Ấn Độ, kiểu gen G ở Pháp, Đức và Hoa Kỳ, kiểu gen H thường gặp ở các nước Trung và Nam Mỹ. Kiểu gen I gặp ở Việt Nam và Lào [118]. Kiểu gen mới nhất của HBV là kiểu gen J đã được xác nhận ở quần đảo Ryukyu, Nhật Bản [142]. Phân bố địa lý của kiểu gen HBV có thể liên quan đến khả năng phơi nhiễm. Ví dụ kiểu gen B và C thường gặp ở vùng dịch tễ cao, chủ yếu lây truyền chu sinh hoặc lây truyền dọc. Kiểu gen khác chủ yếu ở các khu vực lây truyền ngang. Do đó kiểu gen có vai trò quan trọng trong điều tra dịch tễ học mắc bệnh. Phân bố kiểu gen khác nhau giữa các nước và thậm chí giữa các vùng trong một nước. Sự khác biệt bệnh học giữa các kiểu gen đã được hiểu rõ một phần. Tải lượng HBV-ADN trong tế bào gan, ngoài tế bào và HBeAg ở kiểu gen B và C cao hơn so với kiểu gen A và D. HBV-ADN và kháng nguyên gắn kết trong tế bào gan có thể đóng vai trò quan trọng gây tổn thương tế bào gan. Ngoài ra khả năng nhân lên cao của kiểu gen C có thể là lý do tăng tổn thương tế bào gan.

Nghiên cứu về kiểu gen của HBV tại Việt Nam, các tác giả đã xác định được kiểu gen A đến G trong huyết thanh của BN nhiễm HBV tại Việt Nam [146]. Kiểu gen B, C và D phổ biến ở những BN viêm gan vi rút B mạn, xơ gan và HCC

[147],[148] trong khi kiểu gen A thường gặp ở những người mang HBV [146]. Theo nghiên cứu của tác giả Bùi Hữu Hoàng trên BN xơ gan và HCC, Nguyễn Trường Sơn ở người lành mang HBV và BN mắc bệnh gan thuộc các khu vực khác nhau tại miền Bắc và miền Nam đều phát hiện được 2 kiểu gen là B và C với các tỷ lệ dao động là 60 - 80% với kiểu gen B, 20 - 30% với kiểu gen C [7],[14].



Hình 1.5: Phân bố kiểu gen vi rút viêm gan B trên thế giới [130],[140]

1.3. Phương thức lây truyền của vi rút viêm gan B

Những phương thức lây truyền chủ yếu là qua máu, từ mẹ sang con và tình dục.

1.3.1. Lây truyền vi rút viêm gan B qua máu

Từ năm 1960, trước khi những xét nghiệm sàng lọc máu được thực hiện để phát hiện nhiễm HBV ở những người cho máu và khi truyền máu với những máu từ những người cho máu chuyên nghiệp nguy cơ nhiễm vi rút viêm gan trên 30% và khoảng gần 60% số đó có HBsAg dương tính. Nguy cơ nhiễm HBV tăng cao ở những BN mắc Hemophilia (bệnh ưa chảy máu) cần chỉ định truyền máu nhiều lần. Từ năm 1970 áp dụng sàng lọc huyết thanh của HBV làm giảm đáng kể tỷ lệ nhiễm HBV sau truyền máu.

HBV lây truyền dễ dàng qua da và niêm mạc bị phơi nhiễm với máu hoặc các chất dịch của cơ thể nhiễm HBV. Lây nhiễm HBV gấp khoảng 100 lần so với HIV

và gấp 10 lần so với HCV. HBV-ADN đã được xác định ở hầu hết các dịch cơ thể bằng phương pháp PCR. Đường tiêm qua da có dính máu hoặc chất dịch cơ thể đóng vai trò quan trọng trong lây nhiễm HBV. Sử dụng kim tiêm chung ở những người tiêm chích ma túy là đường lây quan trọng của HBV hoặc sử dụng lại những kim tiêm bị nhiễm HBV cho xăm mình, châm cứu và xỏ lỗ tai là những nguy cơ lây nhiễm HBV qua da [138].

Trong môi trường y tế, những tổn thương do kim đâm, tiếp xúc với các dụng cụ y tế bị nhiễm HBV, chạy thận nhân tạo và tiếp xúc với nhân viên y tế bị nhiễm HBV, đặc biệt trong các thủ thuật xâm lấn và phẫu thuật có nguy cơ nhiễm HBV [138]. Trong những vùng dịch tễ, lây truyền ngang giữa những người do tiếp xúc gần có thể xảy ra. Bên cạnh đó HBV có thể tồn tại trong một thời gian ở bên ngoài cơ thể, do đó lây truyền có thể qua các bề mặt nhiễm HBV và sinh hoạt hàng ngày như bàn chải đánh răng, dao cạo râu.... Các côn trùng hút máu người có thể là trung gian truyền bệnh ở động vật nhưng không xảy ra ở người.

HBV là vi rút lây truyền qua máu thường gặp nhất trong môi trường y tế. Lây truyền có thể xảy ra từ BN sang BN hoặc từ BN sang nhân viên y tế hoặc ngược lại thông qua các dụng cụ bị nhiễm HBV hoặc tổn thương do các vật sắc nhọn. Mặc dù đã thực hiện các biện pháp dự phòng phổ cập nhưng lây nhiễm HBV vẫn xảy ra trong cơ sở y tế ngay cả những nước phát triển. Lây nhiễm HBV từ nhân viên y tế sang BN hiếm gặp nhưng đã xảy ra đặc biệt trong phẫu thuật, sản khoa hoặc nha khoa [128].

1.3.2. Lây truyền vi rút viêm gan B qua quan hệ tình dục

Những người mắc viêm gan vi rút B cấp hoặc mạn có khả năng lây truyền HBV sang bạn tình, là nguồn lây quan trọng và những người trưởng thành mang HBsAg dương tính thực hiện hành vi tình dục nguy cơ cao sẽ có nguy cơ lây nhiễm HBV cao [58]. Tuy nhiên hầu hết những người nhiễm HBV mạn không biết họ đang nhiễm bệnh nên không có những biện pháp phòng bệnh và những người mang mầm bệnh không có triệu chứng là nguồn lây nhiễm cho bạn tình. Tỷ lệ nhiễm HBV mạn cao ở những nam giới quan hệ tình dục đồng giới cũng như khác giới khi có nhiều bạn tình. Lây nhiễm HBV ở nhóm đồng tính nam liên quan đến quan hệ tình

dục qua đường hậu môn, tăng số bạn tình và thời gian sinh hoạt tình dục (70% nam giới đồng tính đã bị nhiễm bệnh sau 5 năm sinh hoạt tình dục) [19]. Tuy nhiên tỷ lệ hàng năm của nhiễm HBV mới ở nam giới đồng tính đã giảm đáng kể trong những năm 1980 là kết quả của giáo dục về thực hành tình dục an toàn để ngăn ngừa nhiễm HIV [18]. Như vậy nguy cơ lây nhiễm HBV qua đường tình dục có liên quan đến hình vi tình dục không an toàn, số lượng bạn tình đặc biệt tiền sử mắc bệnh lây truyền qua đường tình dục.

1.3.3. Lây truyền vi rút viêm gan B từ mẹ sang con

Lây truyền mẹ con xảy ra trong khi sinh bởi máu mẹ - thai nhi hoặc phơi nhiễm với máu mẹ khi qua cổ tử cung và qua tiếp xúc mẹ con. Lây truyền trong tử cung hiếm gặp, điều này giải thích tại sao tiêm vắc xin và KT kháng HBV ngay khi sinh có hiệu quả 90% trong dự phòng lây nhiễm HBV từ mẹ sang con.

Lây truyền HBV từ mẹ sang con có thể lây truyền trong tử cung khi phát hiện HBsAg hoặc HBV-ADN trong máu ngoại biên ở trẻ sơ sinh hoặc máu dây rốn. Mẹ lây truyền HBV sang con trong tử cung xảy ra thông qua các tế bào máu của mẹ với các tế bào trong nhau thai hoặc qua nhau thai tại thời gian chuyển dạ đẻ. Lây truyền trong chuyển dạ đẻ có liên quan chặt chẽ với chuyển dạ kéo dài trên 9 giờ. Tổn thương nhau thai và chấn thương do các dụng cụ sản khoa trong thời gian chuyển dạ đẻ làm tăng tỷ lệ lây truyền mẹ con do sự pha trộn máu của mẹ và thai nhi. Chỉ định mổ lấy thai không làm giảm nguy cơ lây nhiễm HBV chu sinh [138].

Trong vùng dịch lưu hành cao, tỷ lệ nhiễm từ mẹ sang con có thể tới 90% nếu không sử dụng các biện pháp dự phòng cho trẻ sơ sinh đặc biệt ở những bà mẹ có HBeAg dương tính và HBV-ADN cao. Nguy cơ lây truyền mẹ - con liên quan đến tình trạng nhân lên của HBV ở người mẹ. Sự xuất hiện của HBeAg trong huyết thanh là một dấu ấn đánh giá sự nhân lên của HBV. Nó thường được sử dụng như một dấu ấn của khả năng lây truyền HBV cho người khác. Nghiên cứu gần đây chứng minh rằng tải lượng HBV-ADN trong huyết thanh mẹ có mối tương quan với nguy cơ lây truyền [160]. Tải lượng HBV-ADN cao là yếu tố nguy cơ chính đối với lây truyền chu sinh ở phụ nữ mang thai.

Sau khi sinh, lây truyền HBV với bú sữa mẹ còn đang tranh cãi. HBsAg được phát hiện trong 72% mẫu sữa mẹ và có thể lây truyền, tuy nhiên không có bằng chứng cho thấy nhiễm HBV có thể được truyền qua cho con bú.

Bảng 1.3: Phương thức lây truyền của vi rút viêm gan B và nguy cơ nhiễm trùng mạn theo tuổi [110]

Tuổi nhiễm	Phương thức lây truyền	Nguy cơ tiến triển mạn
Sơ sinh	Mẹ sang con	90%
0 - 5 tuổi	Lây truyền ngang: Người sang người Tiêm không an toàn	25 - 30%
Trên 5 tuổi	Lây truyền ngang: Người sang người Tiêm không an toàn, tình dục, tiêm chích ma túy	5 - 7%

1.4. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của viêm gan vi rút B mạn

- Viêm gan vi rút B mạn là hiện tượng viêm hoại tử gan mạn tính nguyên nhân do nhiễm HBV kéo dài trên 6 tháng. Viêm gan vi rút B mạn chia thành 2 thể là HBeAg dương tính và HBeAg âm tính. Viêm gan vi rút B mạn nếu không được điều trị dễ tiến triển thành xơ gan hay HCC [102].

- Thông thường có mối tương ứng giữa các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng và tổn thương mô học.

Các triệu chứng lâm sàng gồm mệt mỏi, đau hạ sườn phải, vàng da và ngứa khi có tắc mật. Biểu hiện tăng áp lực tĩnh mạch cửa (cổ chướng, xuất huyết tiêu hoá..) xuất hiện. Khám thấy gan chỉ to vừa, đôi khi đau, có thể thấy lách to.

Xét nghiệm: AST, ALT tăng nhiều hay ít, nhất là $ALT \geq 2$ lần giá trị bình thường (ULN: Upper limit of normal). Phosphatase kiềm bình thường hoặc tăng nhẹ trừ khi trong trường hợp tắc mật thì tăng cao, bilirubin bình thường hoặc tăng nhẹ. Giảm tỷ lệ prothrombin khi có biểu hiện suy gan nặng.

Sinh thiết gan thấy thâm nhiễm khoảng cửa, chủ yếu là tế bào lympho, ranh giới giữa khoảng cửa và tiểu thùy gan rõ ràng, ở đó cũng có những ổ hoại tử (hoại tử mối gặm). Trong thể nặng hoại tử nhiều hơn tạo thành các cầu nối (hoại tử cầu nối) giữa

khoảng cửa với các vùng trung tâm tiêu thụ hoặc giữa các khoảng cửa với nhau. Thực tế lâm sàng cho thấy việc sinh thiết gan rất khó thực hiện ở nhiều nơi bởi nó đòi hỏi trình độ kỹ thuật cao và có nhiều biến chứng (chảy máu, nhiễm trùng), bởi vậy nhiều tác giả đã thống nhất để xác định BN viêm gan vi rút B mạn, người ta chỉ cần kết hợp giữa các biểu hiện lâm sàng với các rối loạn sinh hoá và vi rút học.

1.5. Các yếu tố ảnh hưởng đến tiến triển của bệnh

1.5.1. Tiến triển tự nhiên của nhiễm vi rút viêm gan B mạn

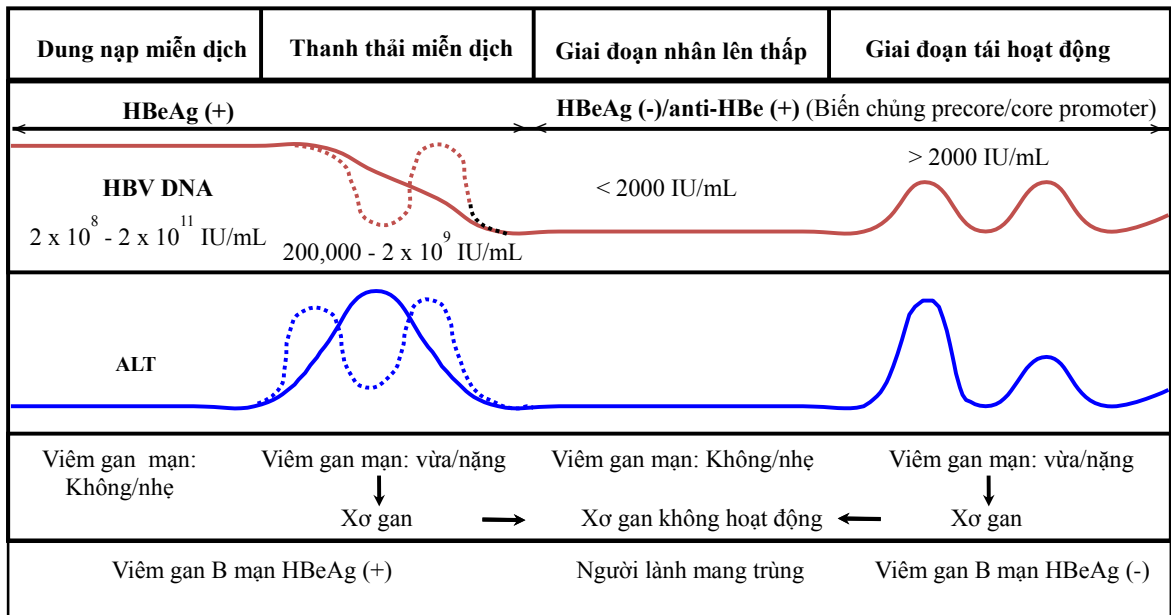
Diễn biến của viêm gan vi rút B mạn qua 4 giai đoạn kế tiếp nhau

- Giai đoạn dung nạp miễn dịch (Immune tolerance phase)

Xảy ra ở giai đoạn sớm của nhiễm HBV mạn. Giai đoạn này gặp ở những trẻ sơ sinh bị lây nhiễm HBV từ mẹ và thường xảy ra trong 20 năm đầu. Trong giai đoạn này ALT và AST thường không tăng nhưng HBV tăng sinh mạnh trong huyết thanh với HBeAg dương tính, nồng độ HBsAg cao ($4,5 - 5 \log_{10}$ IU/ml) và tải lượng HBV-ADN rất cao ($8 - 10 \log_{10}$ IU/ml). Sinh thiết gan ở trong giai đoạn dung nạp miễn dịch không phát hiện phản ứng viêm và xơ hóa. Các chủng HBV trong giai đoạn dung nạp miễn dịch chủ yếu là các chủng HBV tự nhiên có HBeAg dương tính với rất ít hoặc không có đột biến HBeAg âm tính [43].

- Giai đoạn thanh thải miễn dịch (Immune clearance phase)

Chuyển đổi từ dung nạp miễn dịch sang thanh thải miễn dịch thường xảy ra ở tuổi từ 20 - 40 tuổi, nhưng có thể bắt đầu sớm hơn thậm chí xảy ra ở trẻ em. Có ít các thông tin về các cơ chế điều chỉnh sự mất của dung nạp miễn dịch ở những người nhiễm HBV mạn. Những số liệu chứng minh giai đoạn thanh thải miễn dịch thường kèm theo sự thay đổi phân bố HBcAg từ nhân tế bào ra nguyên sinh chất cho thấy rằng có thể được kích hoạt bởi sự thay đổi trong trình diện kháng nguyên của vi rút. Trong giai đoạn này HBeAg dương tính, ALT tăng. Sinh thiết gan ở những BN này có tổn thương mô học và giảm HBcAg trong nhân tế bào gan với tăng HBcAg trong nguyên sinh chất. Những thay đổi này có liên quan đến giảm HBV-ADN huyết thanh từ $6 - 8 \log_{10}$ IU/ml và HBsAg từ $3 - 4,5 \log_{10}$ IU/ml và tăng những đột biến HBeAg âm tính với giảm sản xuất HBeAg.



Hình 1.6: Các giai đoạn nhiễm vi rút viêm gan B [94]

Hầu hết BN trong giai đoạn thanh thải miễn dịch thường không có triệu chứng nhưng tăng ALT từ trung bình đến cao. Vì vậy gọi là viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính. Đáng chú ý trong thực hành lâm sàng có thể được nhấn mạnh bởi bùng phát viêm gan cấp với ALT tăng gấp 5 lần ULN. Tăng cao ALT và bùng phát viêm gan cấp được coi như là kết quả của đáp ứng miễn dịch của kháng nguyên HLA-I, đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào chống lại kháng nguyên của HBV và cơ chế chết theo chương trình của nó. Lý do của bùng phát viêm gan cấp chưa rõ nhưng có khả năng được giải thích bởi những thay đổi trong kiểm soát miễn dịch sự nhân lên của HBV. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng bùng phát viêm gan vi rút cấp thường bắt đầu bằng tăng nhanh HBV-ADN và tăng cường phản ứng của tế bào T với HBeAg và HBcAg. Những thay đổi về tải lượng HBV-ADN và ALT trong giai đoạn bùng phát cấp này tương tự như bùng phát cấp sau điều trị với corticoid hay hóa trị chống ung thư. Tổn thương mô học của viêm gan tiểu thùy tương tự như viêm gan cấp tính với hoại tử cầu nối, thường được thấy trong các đợt bùng phát. Anti-HBc IgM cũng có thể xuất hiện ở một số BN trong giai đoạn bùng phát viêm gan cấp nhưng với nồng độ thấp hơn so với viêm gan cấp [94].

Giai đoạn thanh thải miễn dịch có thời gian thay đổi và thường kéo dài trong nhiều năm đến khi chuyển đảo huyết thanh HBeAg. Chuyển đảo huyết thanh

thường bắt đầu bằng ALT tăng cao và HBV-ADN giảm, tiếp theo giảm tải lượng HBV-ADN huyết thanh đến mức chỉ có thể phát hiện được bằng PCR ($<2 \times 10^{3-4}$ IU/ml), ALT bình thường và giảm mức độ hoại tử của gan. Tuy nhiên, bất thường ALT và HBV-ADN $>2 \times 10^4$ IU/ml tồn tại ở thời điểm chuyển đảo huyết thanh HBeAg khoảng 5% BN. Những BN này tiến triển trực tiếp từ viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính thành viêm gan vi rút B mạn HBeAg âm tính [94].

- Giai đoạn nhân lên thấp hay không nhân lên (Inactive or residual phase)

Ngăn cản sự nhân lên của HBV làm giảm hoạt tính viêm (giảm HBV-ADN, ALT bình thường và giảm tình trạng viêm hoại tử), xảy ra sau khi chuyển đảo huyết thanh từ HBeAg dương tính thành anti-HBe dương tính. Hầu hết những BN đã chuyển đảo huyết thanh duy trì suốt đời tình trạng HBeAg âm tính và anti-HBe dương tính.

- Giai đoạn tái hoạt động (Reactivation phase)

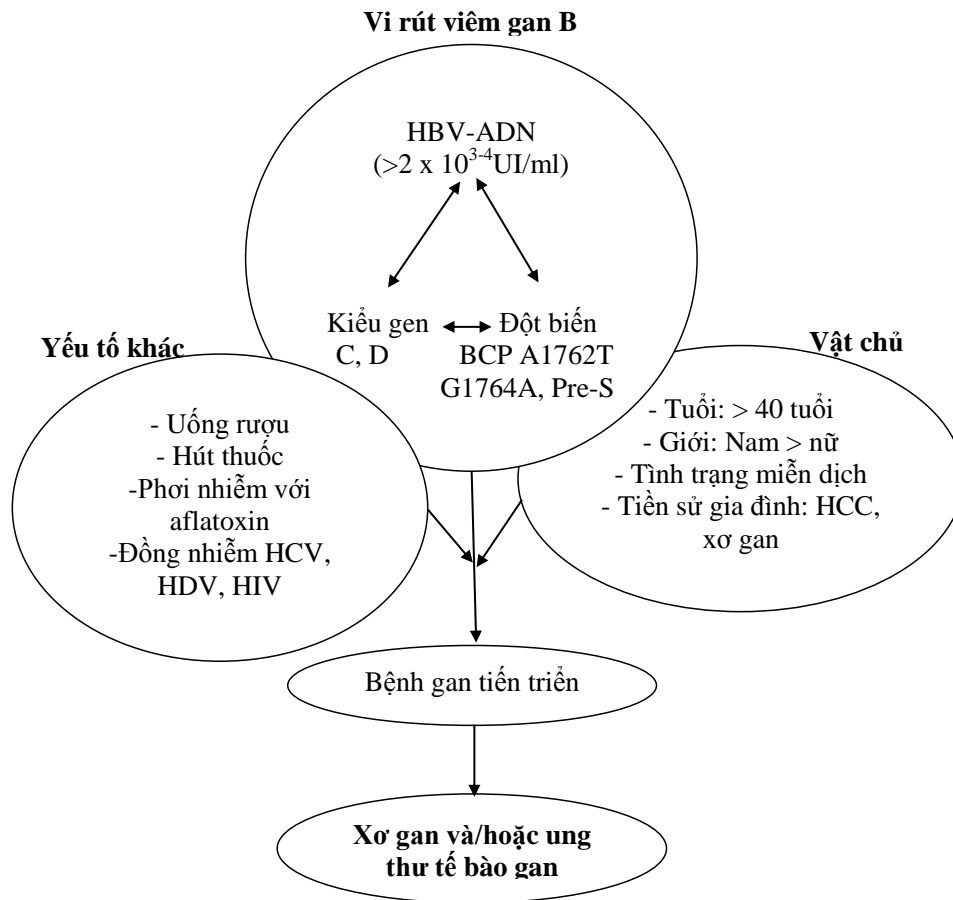
Sau một thời gian nhất định, một số BN xuất hiện giai đoạn tái hoạt động với tăng tải lượng HBV-ADN huyết thanh, xuất hiện các đột biến PC/BCP. Đột biến PC tạo ra mã (codon) dừng nằm trong bộ gen của HBV và ngừng tổng hợp HBeAg, trong khi đó đột biến BCP ảnh hưởng trực tiếp trên hiện tượng sao chép mã để tổng hợp HBeAg. Những đột biến này có thể đơn thuần hay phối hợp với nhau nhưng HBV vẫn tiếp tục tăng sinh mặc dù HBeAg âm tính tạo ra nhóm bệnh viêm gan vi rút B mạn HBeAg âm tính. Diễn biến của viêm gan vi rút B mạn HBeAg âm tính có đặc điểm ALT tiếp tục tăng và dao động, xuất hiện triệu chứng lâm sàng và tổn thương tế bào gan ngày một nhiều dễ dẫn đến xơ gan.

1.5.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến tiến triển của nhiễm vi rút viêm gan B mạn

- Các yếu tố do vi rút viêm gan B

+ Tải lượng HBV-ADN huyết thanh

Xét nghiệm tải lượng HBV-ADN huyết thanh có vai trò quan trọng trong chẩn đoán viêm gan vi rút B mạn. Tải lượng HBV-ADN là dấu hiệu trực tiếp biểu hiện sự nhân lên của vi rút, là xét nghiệm chính xác để đánh giá sự tồn tại và nhân lên của HBV nhất là khi có đột biến PC của HBV làm cho HBeAg âm tính nhưng HBV vẫn hoạt động. Mức độ HBV-ADN trong huyết thanh là một trong các yếu tố dự báo tiến triển của tổn thương gan cũng như đáp ứng với điều trị.



Hình 1.7: Các yếu tố ảnh hưởng đến tiến triển viêm gan vi rút B mạn [93]

Nhiều bằng chứng hỗ trợ cho mối liên quan giữa khả năng nhân lên cao của HBV kèm theo viêm gan, nguy cơ xơ gan và HCC. Sự nhân lên của HBV được xác định bởi phát hiện HBV-ADN huyết thanh ($>10^5$ - 10^6 bản sao/ml) hoặc HBeAg dương tính làm tăng tiến triển của viêm gan vi rút B mạn thành xơ gan. Chậm chuyển đảo huyết thanh HBeAg (BN trên 40 tuổi) và chuyển đảo huyết thanh HBeAg sau khi chuyển đảo HBeAg tự nhiên cho thấy kéo dài thời gian nhân lên của vi rút và viêm hoại tử làm tăng nguy cơ xơ gan. Trong những nghiên cứu tại châu Âu, nghiên cứu dọc 25 năm ở những BN người Ý chẩn đoán viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính tại thời điểm chẩn đoán cho thấy nguy cơ tử vong liên quan đến bệnh gan tăng 33 lần ở những BN còn HBeAg dương tính và 38 lần ở những BN HBeAg âm tính hoặc chuyển đảo HBeAg thành người lành mang mầm bệnh [54]. Các nghiên cứu khác cho thấy BN xơ gan còn bù, HBeAg dương tính và/hoặc HBV-ADN phát hiện trong huyết thanh có nguy cơ cao tiến triển thành mất bù và tử vong [55].

Tại châu Á, một nghiên cứu trên 11893 BN nam giới tại Đài Loan phát hiện nguy cơ HCC tăng gấp 10 lần ở BN chỉ có HBsAg dương tính và 60 lần đối với những BN HBsAg dương tính và HBeAg dương tính tại lúc chẩn đoán so với những BN có 2 xét nghiệm này âm tính [167]. Tăng nguy cơ HCC ở những BN HBeAg dương tính vẫn có ý nghĩa với bất kỳ nồng độ ALT huyết thanh và tình trạng xơ gan [173]. Một nghiên cứu thuần tập dựa trên quần thể của hơn 3500 người mang HBsAg không điều trị (45 tuổi ở thời điểm lựa chọn, 85% HBeAg âm tính, 94% ALT bình thường) ở Đài Loan phát hiện ra rằng nguy cơ xơ gan và HCC tăng lên đáng kể với tải lượng HBV-ADN ban đầu phát hiện được bởi PCR [35],[66]. Nguy cơ tương đối của xơ gan là 2,5; 5,6 và 6,5 khi tải lượng HBV-ADN ban đầu tương ứng bằng hoặc lớn hơn 10^4 , 10^5 và 10^6 bản sao/ml [66]. Nguy cơ HCC tăng đáng kể ở nồng độ 10^4 bản sao/ml và cao nhất đối với BN có tải lượng HBV-ADN ban đầu cao ($>10^6$ bản sao/ml) với chỉ số nguy cơ tương ứng là 2,3 và 6,1 [35]. Nồng độ HBV-ADN vẫn là một yếu tố dự báo độc lập của xơ gan hoặc HCC sau khi đã điều chỉnh các yếu tố nguy cơ khác như tuổi, giới tính, uống rượu, hút thuốc lá, tình trạng HBeAg và ALT huyết thanh [66]. Nghiên cứu thuần tập tiến cứu trên 2763 BN người lớn Trung Quốc có HBsAg dương tính nhận thấy tải lượng HBV-ADN ban đầu cao ($>10^5$ bản sao/ml) là yếu tố liên quan làm tăng tỷ lệ tử vong của HCC và bệnh gan mạn trong thời gian 11 năm [38].

+ Kiểu gen của vi rút viêm gan B

Kiểu gen là một yếu tố không chỉ dự báo tiến triển lâm sàng mà còn liên quan đến đáp ứng điều trị IFN- α . Trong nghiên cứu so sánh kiểu gen B và C nhận thấy nồng độ ALT ở kiểu gen C cao hơn kiểu gen B [164]. Nghiên cứu tiến hành ở Trung Quốc các tác giả nhận thấy giai đoạn thanh thải miễn dịch ở kiểu gen C kéo dài hơn kiểu gen B, mức độ vi rút nhân lên cao và tổn thương mô học cũng cao hơn. Các mối liên quan có thể giữa kiểu gen B, C và tế bào T hỗ trợ tế bào máu ngoại vi (follicular helper T: Tfh) ở BN viêm gan vi rút B mạn đã được đánh giá. Tế bào Tfh đóng vai trò quan trọng trong truyền những tín hiệu có ảnh hưởng đến sự phân chia tế bào, kích hoạt các tế bào B và điều chỉnh các đáp ứng miễn dịch dịch thể. Ngoài

ra tế bào Tfh tiết các tế bào T gây độc tế bào, IL21 để duy trì tác dụng lâu dài, hiệu quả và khả năng miễn dịch kháng vi rút ở trong nhiễm trùng mạn. Tải lượng HBV-ADN và ALT cao ở những BN nhiễm kiểu gen C có thể liên quan đến giảm nồng độ tế bào Tfh ở máu ngoại vi, sẽ gây giảm thấp IL21 khi so sánh với kiểu gen B [165]. Phần lớn các nghiên cứu so sánh các biểu hiện bệnh ở những BN nhiễm kiểu gen C so với kiểu gen B. Kết quả đã chỉ ra rằng BN nhiễm kiểu gen C chuyển đảo huyết thanh HBeAg ở BN cao tuổi lớn hơn và HBeAg dương tính ở BN cao tuổi cao hơn kiểu gen B, kiểu gen C có liên quan đến tăng nguy cơ phản ứng viêm của gan, bùng phát viêm gan và xơ gan [33],[74].

Một số nghiên cứu cắt ngang đã được tiến hành đánh giá mối liên quan giữa kiểu gen B và C với HCC. Trong hầu hết các nghiên cứu, kiểu gen C có liên quan tới tăng nguy cơ HCC trong đó kiểu gen C liên quan có ý nghĩa với HCC ở những người trẻ (<50 tuổi) và kiểu gen B liên quan đến HCC chủ yếu ở những người trên 60 tuổi [89]. Trong một nghiên cứu cắt ngang khác nguy cơ HCC không có sự khác nhau giữa kiểu gen B và C, nhưng nguy cơ HCC ở kiểu gen C thường ở BN trẻ [141]. Đột biến BCP được xác định là có mối liên quan độc lập với HCC và thường gặp ở kiểu gen C. Hai nghiên cứu lớn nhất bao gồm 426 và 4841 BN được theo dõi trung bình 4,8 - 14 năm nhận thấy tăng đáng kể nguy cơ HCC ở kiểu gen C so với kiểu gen B.

+ Đột biến vùng gen *pre-core/basal core promoter*

Vùng gen PC/BCP nằm trên cấu trúc gen C, chứa các thông tin di truyền mã hóa HBcAg và HBeAg. Vùng BCP nằm phía trước sát với vùng PC, hai vùng này có liên quan với nhau trong quá trình sao chép các thông tin di truyền và nhân lên của HBV. Năm 1989, các tác giả phát hiện những BN người Hy Lạp và Ý nhiễm HBV tiến triển nhanh đến viêm gan vi rút B mạn. Xét nghiệm những BN này có HBeAg âm tính, anti-HBe dương tính nhưng HBV nhân lên rất nhanh và HBV-ADN dương tính. Khi dùng kỹ thuật PCR để khuếch đại vùng PC, phát hiện đột biến xảy ra ở nucleotit 1896 (PC G1896A) [27].

Đột biến ở vùng BCP xảy ra tại vị trí nucleotit 1762, adenin (A) được thay bằng thymidin (T) (BCP A1762T) và tại nucleotit 1764 guanosin (G) được thay

bằng adenin (BCP G1764A). Kết quả đột biến BCP ngăn cản tổng hợp HBeAg nhưng HBV vẫn nhân lên.

Viêm gan mạn do HBV đột biến PC/BCP xảy ra ở khắp nơi trên thế giới nhưng tỉ lệ chưa được ghi nhận đầy đủ. Sự khác nhau về tỷ lệ HBV đột biến PC ở những vùng địa dư khác nhau có liên quan đến kiểu gen. Sự đột biến tạo nên mã di truyền kết thúc chỉ tìm thấy ở những BN nhiễm kiểu gen có mang thymidin ở vị trí nucleotit 1858. Nucleotit 1896 có cấu trúc cặp đôi với nucleotit 1858 ở kiểu gen B, D, E, G và vài chuỗi của kiểu gen C tồn tại thymidin. Bởi vậy đột biến nucleotit G1896A làm ổn định cấu trúc vòng. Đột biến làm ngừng mã di truyền PC ít khi phát hiện ở kiểu gen A, F và một số chuỗi của kiểu gen C bởi sự xuất hiện của cytidin (C) ở nucleotit 1858. BN nhiễm kiểu gen C chọn lọc đột biến PC gặp ở Đông Nam Á nhiều hơn ở Đài Loan nhưng không có ở Nhật Bản, trong khi đó kiểu gen F ở Trung Mỹ [75]. Đột biến BCP ở nucleotit 1762 và 1764, kết quả làm giảm dịch mã của pre-C/CmRNA, giảm tổng hợp HBeAg. Đột biến BCP thường gặp ở kiểu gen A và C, gặp với tỷ lệ thấp ở kiểu gen B, D. Sự xuất hiện đột biến PC/BCP có thể có vai trò quan trọng gây tiếp tục phá hủy tế bào gan sau khi chuyển đổi HBeAg.

- Các yếu tố cơ thể con người

Những yếu tố cơ thể con người liên quan đến tiến triển của viêm gan vi rút B mạn đến xơ gan và các biến chứng bao gồm tuổi cao, nam giới và các biểu hiện bệnh gan. Những yếu tố khác có thể ảnh hưởng bao gồm tiền sử gia đình có người HCC và xơ gan. Nam giới có nguy cơ cao HCC hơn nữ giới đặc biệt trên 45 tuổi. Một số nghiên cứu cho thấy các BN châu Á trên 40 tuổi có nguy cơ cao bị xơ gan và HCC hơn ở những người trẻ [35],[66]. Nguy cơ HCC cao ở những người tiền sử gia đình có HCC, điều đó cho thấy vai trò của tính nhạy cảm di truyền [174].

- Các yếu tố khác

Đồng nhiễm với HCV, HIV và HDV, uống rượu, phơi nhiễm với aflatoxin và hút thuốc là những yếu tố có thể ảnh hưởng đến tiến triển của nhiễm HBV mạn đặc biệt là đồng nhiễm với HCV, HDV và HIV.

1.6. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị viêm gan vi rút B mạn

1.6.1. Mục tiêu điều trị

Mục tiêu điều trị viêm gan vi rút B mạn là cải thiện chất lượng cuộc sống và cứu sống BN bằng cách ngăn cản sự tiến triển của bệnh tới xơ gan, HCC và tử vong [53],[95],[102]. Bao gồm:

- Bình thường ALT
- Giảm hay mất HBV-ADN
- Chuyển đảo huyết thanh ở BN có HBeAg dương tính
- Cải thiện tình trạng mô học của tế bào gan
- Chuyển đảo huyết thanh HBsAg

Mục tiêu này có thể đạt được nếu việc nhân lên của HBV bị ức chế bền vững. Sự ức chế nhân lên HBV bền vững làm cải thiện tình trạng mô học của tế bào gan, giảm nguy cơ xơ gan và HCC đặc biệt ở những BN không có xơ gan. Tuy nhiên trong viêm gan vi rút B mạn không thể loại trừ hoàn toàn HBV được do tồn tại dai dẳng của cccDNA trong tế bào gan bị nhiễm, điều đó giải thích sự bùng phát của HBV. Hơn nữa bộ gen của HBV tích hợp vào bộ gen của tế bào gan, tạo điều kiện thuận lợi phát sinh u và gây HCC [53]. Thách thức đối với các thầy thuốc khi đến cuối đợt điều trị đó là sự chuyển đảo huyết thanh HBeAg, HBsAg và hạn chế sự xuất hiện các chủng HBV kháng thuốc.

1.6.2. Chỉ định điều trị

Chỉ định điều trị thuốc kháng vi rút giống nhau đối với viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính và HBeAg âm tính [53]. Chỉ định dựa trên 3 yếu tố:

- Tải lượng HBV-ADN huyết thanh
- Nồng độ ALT huyết thanh
- Mức độ nặng của bệnh gan

BN cần được xem xét điều trị khi tải lượng HBV-ADN trên 2000 IU/ml, nồng độ ALT tăng trên giới hạn bình thường và mức độ nặng của bệnh qua sinh thiết gan (hoặc thăm dò không xâm nhập) biểu hiện mức độ hoại tử vừa và nặng. Ở những

BN đủ tiêu chuẩn về HBV-ADN và mô học, có thể điều trị ngay kể cả ALT bình thường. Chỉ định điều trị cần phải đánh giá tuổi, tình trạng sức khỏe, tiền sử HCC trong gia đình hoặc xơ gan và các biểu hiện ngoài gan.

Chỉ định cụ thể:

- HBsAg dương tính kéo dài ≥ 6 tháng

- Tải lượng HBV-ADN $\geq 2 \times 10^4$ IU/ml với BN có HBeAg dương tính

Tải lượng HBV-ADN $\geq 2 \times 10^3 - 10^4$ IU/ml với BN có HBeAg âm tính.

- Nồng độ ALT tăng ≥ 2 ULN.

Nếu ALT tăng 1-2 ULN, tải lượng HBV-ADN cao và BN ≥ 40 tuổi hoặc tiền sử gia đình có người bị HCC sẽ được chỉ định sinh thiết gan hoặc đo Fibroscan có phản ứng viêm hoại tử mức độ vừa hoặc nặng và xơ gan (giai đoạn F2 trở lên theo thang điểm Metavir) chỉ định điều trị thuốc kháng vi rút [102],[53].

1.6.3. Chiến lược điều trị thuốc kháng vi rút

Hiện nay có 2 chiến lược điều trị cho cả viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính và HBeAg âm tính đó là [53],[95],[102],:

- Điều trị có thời hạn với Interferon (IFN) hoặc Pegylated Interferon (PegIFN) đặc biệt là PegIFN.

Thời gian điều trị: 12 tháng

- Điều trị kéo dài với các thuốc kháng vi rút loại NA: LMV, ADV, ETV, TDF và telbivudin (LdT). Trong đó ETV và TDF là thuốc có hàng rào di truyền kháng thuốc cao, tỷ lệ kháng thuốc thấp nên được lựa chọn là thuốc đầu tiên trong điều trị viêm gan vi rút B mạn bằng các thuốc loại NA hiện nay.

Thời gian điều trị: BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính điều trị cho đến khi có chuyển đảo huyết thanh HBeAg từ 12 tháng và BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg âm tính điều trị cho đến khi có chuyển đảo huyết thanh HBsAg.

1.6.4. Đặc điểm của thuốc entecavir và tenofovir

1.6.4.1. Thuốc entecavir

- Cơ chế tác dụng và hiệu quả điều trị

ETV là dẫn xuất carbocyclic 2'-deoxyguanosin, ức chế chọn lọc môi, tổng hợp ADN và ức chế sao chép ngược HBV polymerase với thời gian bán hủy 15 giờ. So với các thuốc kháng vi rút khác, ETV ức chế cả 3 giai đoạn trong chu trình nhân lên của HBV: Hoạt hóa HBV polymerase, sao chép ngược chuỗi âm ADN từ ARN thông tin và tổng hợp chuỗi dương ADN của HBV. ETV hấp thu nhanh qua đường tiêu hóa với đỉnh huyết tương đạt được sau 0,5 - 1,5 giờ. 62 - 73% thuốc đào thải qua thận dưới dạng còn hoạt tính [86].

ETV có hiệu quả điều trị viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính và HBeAg âm tính. Người ta đã so sánh viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính, điều trị ETV 0.5 mg/ngày và LMV 100 mg/ngày, sau 1 năm điều trị tỷ lệ đáp ứng của ETV so với LMV tương ứng là: Cải thiện mô học 72% so với 62%, HBV-ADN giảm 6,9 log và HBV-ADN dưới ngưỡng phát hiện bởi PCR là 67% so với 36%, đáp ứng sinh hóa 68% so với 60% [31]. Tuy nhiên tỷ lệ chuyển đảo huyết thanh HBeAg tương tự nhau (21% so với 18%) [31]. Ở BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg âm tính, tỷ lệ đáp ứng điều trị sau 48 tuần của ETV so với LMV: Đáp ứng vi rút là 90% so với 72%; sinh hóa là 78% so với 71% [85]. Báo cáo trong 5 năm điều trị ETV ở những BN HBeAg dương tính với liều ETV 0,5 mg/ngày đến 1 mg/ngày, HBV-ADN dưới ngưỡng phát hiện (<300 bản sao/ml) là 89%, 91% và 94% tương ứng với 3 năm, 4 năm và 5 năm. Ngoài ra tỷ lệ chuyển đảo huyết thanh HBeAg là 31% sau 2 năm, tỷ lệ chuyển đảo huyết thanh HBeAg ở 141 BN HBeAg dương tính là 23% ở tuần 96 - 240 [30]. Kết quả này cũng được khẳng định bởi nhiều nghiên cứu điều trị bằng ETV 0,5 mg/ngày với 83 - 90% BN không phát hiện HBV-ADN và 24 - 44% BN có chuyển đảo huyết thanh HBeAg sau 3 năm điều trị [172],[177],[180]. Tỷ lệ mất HBsAg 0 - 1,4% ở những BN HBeAg dương tính sau 3 năm điều trị ETV [30],[177],[180].

- Đột biến kháng entecavir

ETV là thuốc có hàng rào di truyền kháng thuốc cao, kháng thuốc với ETV xảy ra khi có cùng 3 đột biến gồm đột biến L180M, M204I/V phối hợp với một trong những đột biến sau T184S/G, S202I/G hoặc M250V [179]. Sự xuất hiện đồng thời 3 đột biến rất khó khăn nên tỷ lệ kháng với ETV thấp ở BN nhiễm chủng HBV tự nhiên. Trong một nghiên cứu theo dõi BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính và HBeAg âm tính, tỷ lệ kháng với ETV sau 5 năm điều trị ETV là 1,2% [143]. Kết quả này cũng được xác định với các nghiên cứu ở Nhật Bản, Hồng Kông với tỷ lệ kháng ETV 0,8 - 3,3% sau 2 - 3 năm điều trị ETV [56],[172].

- **Liều lượng và cách sử dụng:** 0,5 mg/ngày, uống liên tục hàng ngày và thuốc cần được uống khi đói.

1.6.4.2. Thuốc tenofovir

- Cơ chế tác dụng và hiệu quả điều trị

TDF là dẫn chất nucleotit, có hiệu quả cả với HIV và HBV, ban đầu được chỉ định điều trị BN nhiễm HIV năm 2001 và được sử dụng điều trị viêm gan vi rút B mạn từ 2008. Thuốc có tác dụng ức chế HBV polymerase và có cấu trúc tương tự như ADV, được sử dụng điều trị có hiệu quả những BN đồng nhiễm HIV/HBV. TDF làm giảm HBV-ADN nhanh, ổn định hơn so với LMV và ADV [109]. Giống như ADV, TDF có tác dụng với HBV kháng LMV (đột biến M204V/I). TDF có hiệu quả với các chủng HBV tự nhiên, HBV kháng LMV và HBV kháng ETV tuy nhiên TDF có hiệu quả hơn ADV và ETV với những chủng HBV kháng LMV.

Trong nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng giai đoạn 3 điều trị viêm gan vi rút B mạn bằng TDF hoặc ADV, theo dõi sau 12 tháng điều trị với BN có HBeAg dương tính TDF có hiệu quả hơn ADV với tỷ lệ HBV-ADN dưới ngưỡng phát hiện bằng kỹ thuật PCR là 76% so với 13%, ALT trở về bình thường là 68% so với 54% nhưng tỷ lệ đáp ứng mô học, chuyển đảo huyết thanh tương tự [109]. Cũng trong nghiên cứu này, BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg âm tính, điều trị TDF có hiệu quả hơn ADV, tỷ lệ HBV-ADN dưới ngưỡng phát hiện bằng kỹ thuật PCR là 93%

(TDF) so với 63% (ADV) [109]. Như vậy trong nghiên cứu lâm sàng giai đoạn 3 này, sử dụng TDF 300 mg hàng ngày ức chế HBV-ADN cao hơn ADV 10 mg/ngày ở cả BN HBeAg dương tính và HBeAg âm tính [109]. Điều trị TDF trong 3 năm, tỷ lệ HBV-ADN không phát hiện là 72% (<400 bản sao/ml) và 26% chuyển đảo huyết thanh HBeAg ở những BN HBeAg dương tính, ở BN HBeAg âm tính 87% không phát hiện HBV-ADN. Tỷ lệ mất HBsAg 8% ở những BN HBeAg dương tính và kiểu gen A, D và F, không thấy mất HBsAg ở BN HBeAg âm tính [60].

- Đột biến kháng với tenofovir

Cho đến nay chưa có các báo cáo về kháng TDF trên lâm sàng ở những BN điều trị với TDF. Nghiên cứu của Snow và cộng sự trên 641 BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính và HBeAg âm tính không phát hiện đột biến kháng với TDF sau 144 tuần điều trị TDF [133]. Theo dõi điều trị 3 - 6 năm không phát hiện HBV kháng với TDF [60],[81]. TDF có hiệu quả điều trị cao ở BN có đột biến M204I/V nhưng đột biến A181V/T và N236T kháng với TDF [179]. Trong số BN có đột biến A181T/V và/hoặc N236T, tác dụng ức chế vi rút của TDF giảm đi [122],[153].

- Liều lượng và cách sử dụng: 300 mg/ngày, uống hàng ngày

1.6.5. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị viêm gan vi rút B mạn

Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị BN viêm gan vi rút B mạn bằng thuốc kháng vi rút, những yếu tố đó có thể do HBV hoặc cơ thể con người.

1.6.5.1. Các yếu tố do vi rút viêm gan B

- Các yếu tố trước điều trị

+ Tải lượng HBV-ADN huyết thanh

Tải lượng HBV-ADN huyết thanh là yếu tố dự báo tiên triễn lâm sàng, hiệu quả điều trị viêm gan vi rút B mạn, xơ gan và HCC. Nghiên cứu cho thấy tải lượng HBV-ADN trước điều trị có liên quan đến hiệu quả điều trị bao gồm giảm nồng độ ALT, HBV-ADN, chuyển đảo huyết thanh HBeAg, HBsAg và cải thiện mô học [112]. Hơn nữa các nghiên cứu lâm sàng xác định tải lượng HBV-ADN trước điều trị thấp là 1 trong những yếu tố tiên đoán mất HBeAg hoặc chuyển đảo huyết thanh cũng như ức chế vi rút ở những BN điều trị thuốc kháng vi rút. Những BN viêm gan

vi rút B mạn HBeAg dương tính, yếu tố dự báo chuyển đảo huyết thanh HBeAg là HBV-ADN thấp (dưới 2×10^8 IU/ml), ALT cao (khoảng 2 - 5 ULN), kiểu gen và tổn thương viêm cao trên sinh thiết [87].

+ *Nồng độ HBsAg huyết thanh*

Đáp ứng của BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính và HBeAg âm tính với điều trị PegIFN có thể được dự báo bởi nồng độ HBsAg trước điều trị và thay đổi nồng độ HBsAg trong thời gian điều trị. Mối liên quan giữa HBsAg, HBV-ADN trong tế bào gan và HBV-ADN trong huyết thanh khác nhau tùy theo tình trạng HBeAg. Trong viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính, nồng độ HBsAg tương quan tỷ lệ thuận với HBV-ADN trong gan và HBV-ADN trong huyết thanh. Ngược lại trong viêm gan vi rút B mạn HBeAg âm tính nồng độ HBsAg ít liên quan với HBV-ADN huyết thanh và không liên quan với HBV-ADN trong gan.

Nồng độ HBsAg cao tăng nguy cơ HCC ở những BN HBeAg âm tính với tải lượng HBV-ADN huyết thanh thấp (<2000 IU/ml). Tỷ lệ nguy cơ HCC ở những BN có HBsAg ≥ 1000 IU/ml so với <1000 IU/ml là 13,7 [150]. Những bằng chứng đó chỉ ra rằng có mối tương quan giữa nồng độ HBsAg với tiến triển của bệnh gan. Do đó nồng độ HBsAg có thể là một yếu tố dự báo về hiệu quả trong thời gian điều trị thuốc kháng vi rút. Gần đây 2 nghiên cứu về điều trị BN viêm gan vi rút B mạn với ETV trong 2 năm cho thấy sự kết hợp của nồng độ HBsAg trước điều trị và đáp ứng điều trị vẫn còn tranh cãi [56],[90]. Những bằng chứng này chỉ ra rằng cần những nghiên cứu sâu hơn để đảm bảo giá trị tiên đoán của nồng độ HBsAg ban đầu với đáp ứng của điều trị kháng vi rút.

+ *Kiểu gen của vi rút viêm gan B*

Biểu hiện lâm sàng và vi rút học của các kiểu gen HBV khác nhau theo vùng địa lý. Tác động kiểu gen HBV với đáp ứng điều trị IFN/PegIFN và các thuốc kháng vi rút loại NA ngày càng được công nhận [98]. Kiểu gen của HBV đã được chứng minh có liên quan đến kết quả điều trị với IFN/PegIFN. BN nhiễm kiểu gen A chủ yếu ở Bắc Âu và châu Mỹ có tỷ lệ chuyển đảo HBeAg và HBsAg cao hơn so

với BN nhiễm kiểu gen D chủ yếu ở Nam Âu hoặc kiểu gen B, C ở châu Á [159]. Trên những BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính điều trị IFN, tỷ lệ đáp ứng bền vững của ALT và chuyển đảo huyết thanh HBeAg sau điều trị tốt hơn ở BN nhiễm kiểu gen A, B so với BN nhiễm kiểu gen C và D [51]. Kiểu gen A và B của HBV có tỷ lệ chuyển đảo huyết thanh HBeAg và mất HBsAg cao hơn so với kiểu gen D và C khi điều trị PegIFN [68],[87]. Nghiên cứu trước đó cũng cho thấy BN nhiễm kiểu gen A và B của HBV đáp ứng điều trị IFN/PegIFN tốt hơn so với kiểu gen C và D [39]. Nghiên cứu đa trung tâm điều trị PegIFN cho BN viêm gan vi rút B mạn có HBeAg dương tính cũng cho thấy tỷ lệ mất HBeAg và duy trì mất HBeAg sau 3 năm điều trị cao ở BN nhiễm kiểu gen A, B so với kiểu gen C và D [26]. Ngoài ra BN nhiễm kiểu gen A, B giảm đáng kể nồng độ HBsAg huyết thanh so với BN nhiễm kiểu gen C và D ($p < 0,001$) trong quá trình điều trị PegIFN đối với BN HBeAg dương tính [136]. Phân tích Meta cũng khẳng định rằng BN nhiễm kiểu gen A đáp ứng với IFN so tốt hơn với kiểu gen D với cả BN HBeAg dương tính và HBeAg âm tính, tương tự như vậy, BN nhiễm kiểu gen B với HBeAg dương tính có tỷ lệ đáp ứng IFN cao hơn nhiễm kiểu gen C [158].

Trái ngược với điều trị IFN, đáp ứng khác nhau với thuốc kháng vi rút loại NA ở những BN có kiểu gen HBV khác nhau vẫn còn tranh cãi [178]. Kiểu gen của HBV dường như không có tác động đến đáp ứng điều trị với NA. Nghiên cứu hồi cứu cho thấy kiểu gen B liên quan độc lập với sự xuất hiện sớm hơn của các chủng kháng LMV hơn so với kiểu gen C. Ngoài ra BN nhiễm kiểu gen B có liên quan hơn với sự xuất hiện của kháng LMV trong vòng 12 tháng điều trị LMV so với kiểu gen C [64]. Cho dù mỗi kiểu gen nhất định kết hợp với sự xuất hiện của kháng LMV vẫn chưa rõ ràng, theo dõi thường xuyên mức độ kháng thuốc nên được thực hiện cho tất cả các BN điều trị LMV.

+ Đột biến của vi rút viêm gan B đặc biệt đột biến kháng thuốc

Những đột biến của HBV thường gặp là đột biến PC, BCP và đột biến thoát ở vùng gen Pre-S/S đã được báo cáo có liên quan đến bệnh gan tiến triển bao gồm cả xơ gan và HCC [97]. Tuy nhiên những ảnh hưởng đến điều trị viêm gan vi rút B mạn phần

lớn chưa rõ. Nghiên cứu gần đây nhận thấy hơn một nửa nghiên cứu cho rằng đột biến PC G1896A hoặc BCP A1762T/G1764A có liên quan đến đáp ứng với điều trị IFN/PegIFN hoặc NA. Nghiên cứu 116 BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính điều trị bằng LMV nhận thấy chủng HBV đột biến PC G1896A so với chủng tự nhiên có liên quan đến mất HBeAg ở cuối đợt điều trị (75% với 52%, $p=0,045$) [149].

Nghiên cứu mới đây trên 115 BN HBeAg dương tính điều trị PegIFN α -2a trong 6 tháng cho thấy đột biến BCP A1762T/G1764A liên quan đến chuyển đảo huyết thanh HBeAg, giảm HBV-ADN <20.000 IU/ml cũng như ALT trở về bình thường ở tháng thứ 6 sau khi ngừng điều trị (OR: 8,04; 95%CI: 2 - 32.28) [151]. Ngược lại, nghiên cứu trên BN HBeAg dương tính điều trị PegIFN có hoặc không có LMV trong 1 năm cho thấy ở BN nhiễm chủng HBV không có đột biến PC/BCP trước điều trị so với chủng có đột biến PC/BCP có nhiều khả năng mất HBeAg và HBV-ADN <10.000 bản sao/ml (đáp ứng 34% và 11%, $p<0,001$) và thanh thải HBsAg (18% với 2%, $p<0,001$) 6 tháng sau khi BN ngừng điều trị [137]. Tuy nhiên dữ liệu liên quan còn hạn chế, cần có nghiên cứu quy mô lớn để đánh giá sự kết hợp của các đột biến HBV với đáp ứng điều trị các thuốc kháng vi rút.

Kháng thuốc là một hạn chế lớn cho hiệu quả lâu dài của điều trị thuốc kháng vi rút loại NA trong viêm gan vi rút B mạn. Đột biến kháng thuốc có thể tồn tại trong quần thể HBV ở những BN chưa điều trị như đột biến M204V/I, L180M, M250V/I [111],[132]. Do đó đánh giá sự xuất hiện của các đột biến kháng thuốc ở những BN chưa điều trị giúp cho các bác sĩ lựa chọn thuốc phù hợp.

- Các yếu tố trong quá trình điều trị

+ Giảm tải lượng HBV-ADN huyết thanh

Trong điều trị thuốc kháng vi rút, giảm tải lượng HBV-ADN so với trước điều trị có vai trò quan trọng trong đánh giá hiệu quả điều trị. Do đó theo dõi sự thay đổi HBV-ADN sớm trong thời gian điều trị cho phép hướng dẫn điều trị và đưa ra những biện pháp hạn chế kháng thuốc hoặc đáp ứng kém.

Đối với điều trị các thuốc IFN/PegIFN tải lượng HBV-ADN có ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị. Ở những BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính, giảm tải lượng HBV-ADN dưới 2×10^4 IU/ml ở tuần 12 có liên quan đến 50% cơ hội chuyển

đảo huyết thanh HBeAg, đặc biệt kích hoạt miễn dịch làm bùng phát ALT sau đó giảm HBV-ADN có liên quan hơn đến chuyển đảo huyết thanh HBeAg. Nồng độ HBeAg ở tuần 24 cũng có thể dự đoán chuyển đảo huyết thanh HBeAg. BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg âm tính, giảm HBV-ADN dưới 2×10^4 IU/ml ở tuần thứ 12 có liên quan đến 50% duy trì đáp ứng khi kết thúc điều trị [24]. Bùng phát ALT kèm theo giảm HBV-ADN và nồng độ HBeAg trong quá trình điều trị PegIFN dự đoán đáp ứng cuối đợt điều trị và theo dõi sau điều trị [144].

Trong những năm gần đây, ức chế vi rút sớm được xác định là một yếu tố dự báo quan trọng về hiệu quả điều trị của thuốc kháng vi rút loại NA. Điều đó được xác nhận ở BN với tải lượng HBV-ADN dưới 2000 IU/ml ở tuần thứ 4 điều trị LMV có khả năng cao đạt được đáp ứng (HBV-ADN dưới 400 IU/ml, chuyển đảo HBeAg, ALT bình thường và không có kháng với LMV) sau 5 năm điều trị LMV [176]. Tương tự nghiên cứu ở những BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính và HBeAg âm tính điều trị LMV và LdT, HBV-ADN không phát hiện ở tuần 24 có liên quan đến kết quả tốt ở tuần thứ 52 về vi rút, sinh hóa và kháng thuốc [83]. Ở những BN kháng với LMV được điều trị với ADV, đáp ứng vi rút sớm là một yếu tố dự báo cho hiệu quả điều trị lâu dài. BN có HBV-ADN không phát hiện ở tuần 24 có tỷ lệ đáp ứng vi rút cao hơn có ý nghĩa so với HBV-ADN trên 2×10^4 IU/ml [131]. Đối với chủng HBV tự nhiên, viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính điều trị kéo dài, tải lượng HBV-ADN dưới 10^4 bản sao/ml ở tuần 4 là yếu tố dự đoán tốt của đáp ứng vi rút, cũng như chuyển đảo huyết thanh HBeAg [104]. Không giống các thuốc kháng vi rút khác, tác động của đáp ứng sớm vi rút về hiệu quả điều trị của NA như ETV và TDF còn chưa được xác định. Đối với BN điều trị ETV, giảm nhanh tải lượng HBV-ADN ở ngày điều trị thứ 10 là yếu tố dự đoán đáp ứng vi rút với HBV-ADN dưới 300 bản sao/ml ở tuần 48 [92].

Tất cả những bằng chứng cho thấy thay đổi tải lượng HBV-ADN trong quá trình điều trị là yếu tố dự báo quan trọng nhất của đáp ứng điều trị và kháng thuốc trong quá trình điều trị các NA. Trong tất cả các trường hợp thất bại điều trị, tuân thủ điều trị cần được đánh giá trước khi thay đổi điều trị. Đáp ứng vi rút trong quá

trình điều trị TDF có thể giảm từ 87% xuống 71% nếu BN không tuân thủ điều trị, điều đó cũng rất quan trọng trong việc hạn chế hiện tượng HBV kháng thuốc [22].

+ *Giảm nồng độ HBsAg huyết thanh*

Giảm nồng độ HBsAg trong quá trình điều trị là yếu tố dự báo đáp ứng điều trị và mất HBsAg [113]. Tuy nhiên cần các nghiên cứu sâu hơn để làm rõ là làm thế nào để tối ưu hóa việc sử dụng nồng độ HBsAg trong việc quản lý BN trong thực hành lâm sàng. Nghiên cứu gần đây cho thấy giảm nồng độ HBsAg dưới 1500 IU/ml ở tuần 12 là một yếu tố dự báo của chuyển đảo huyết thanh HBeAg, trong khi nồng độ HBsAg trên 20.000 IU/ml hoặc không giảm nồng độ HBsAg ở tuần 12 có liên quan đến tỷ lệ chuyển đảo huyết thanh HBeAg thấp [123].

Đối với BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính, sau 1 năm điều trị PegIFN đơn độc hay phối hợp với LMV, kết quả giảm nồng độ HBsAg ở BN mất HBeAg và HBV-ADN ở tuần 26 sau điều trị có ý nghĩa so với những BN không đáp ứng (giảm ở tuần 52: 3.3 với 0.7 log IU/ml, $p < 0,001$). BN không giảm HBsAg huyết thanh ở tuần thứ 12 có khả năng 97% BN không đáp ứng và không mất HBsAg ở cuối đợt điều trị [135]. Nghiên cứu đa quốc gia thực hiện trên 386 BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg âm tính (chủ yếu nhiễm kiểu gen B và C) điều trị 48 tuần với PegIFN có hay không có LMV, kết quả cuối đợt điều trị nồng độ HBsAg dưới 10 IU/ml và trong quá trình điều trị giảm nồng độ HBsAg trên 1 log₁₀ IU/ml có liên quan đến đào thải HBsAg bền vững sau 3 năm điều trị [25]. Đặc biệt giảm sớm HBsAg huyết thanh ở tuần thứ 12 dự báo đáp ứng vi rút bền vững với PegIFN [113].

Ngược lại với điều trị IFN/PegIFN, vai trò của HBsAg huyết thanh ở những BN viêm gan vi rút B mạn điều trị NA còn tranh luận. Trong nghiên cứu 168 BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính điều trị hàng ngày LdT 600 mg trong 3 năm, nồng độ HBsAg huyết thanh giảm dần trong 3 năm điều trị ($p < 0.0001$). Ngoài ra, 25% BN giảm nhanh HBsAg (≥ 1 log₁₀ IU/ml ở năm thứ nhất) đạt được chuyển đảo huyết thanh HBsAg sau 3 năm điều trị [70]. Trong một nghiên cứu gần đây trên BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính được điều trị với ETV, đa số BN (60%) nồng độ HBsAg trong huyết thanh giảm không đáng kể trong thời gian điều

trị 2 năm. Hơn nữa giảm nồng độ HBsAg huyết thanh sớm ở 12 và 24 tuần không liên quan đến ức chế HBV-ADN hoặc chuyển đảo huyết thanh HBeAg [56]. Ngoài ra nồng độ HBsAg huyết thanh ban đầu và trong quá trình điều trị thuốc kháng vi rút ở một số BN điều trị ETV và PegIFN được so sánh. Ở những BN có HBeAg âm tính, kết quả điều trị PegIFN giảm đáng kể nồng độ HBsAg huyết thanh, trong khi nồng độ HBsAg huyết thanh không giảm ở những BN điều trị ETV [125]. Vì vậy cho dù điều trị thuốc kháng vi rút khác nhau sự khác biệt về động học HBsAg chưa được biết rõ. Hơn nữa thời điểm HBsAg giảm trong khi điều trị chưa chắc chắn. Vì vậy các nghiên cứu tương lai được tiến hành để xác định giá trị tiên đoán thay đổi của HBsAg đối với hiệu quả cũng như thời điểm tối ưu để đo nồng độ HBsAg trong khi điều trị thuốc kháng vi rút.

1.6.5.2. Các yếu tố do cơ thể con người

- ALT huyết thanh có giá trị tiên lượng, liên quan đến các biến chứng lâu dài và tiến triển tự nhiên của viêm gan vi rút B mạn. Trong nghiên cứu phân tích các tác giả thấy rằng ALT trước điều trị cao hơn 1,5 ULN là một yếu tố dự báo đáp ứng không hoàn toàn ở những BN viêm gan vi rút B mạn được điều trị các thuốc loại NA [20]. Kết quả đáp ứng không hoàn toàn được đề cập đến trong nghiên cứu này là những BN có HBV-ADN dưới ngưỡng phát hiện mà ALT không trở về bình thường hoặc chuyển đổi HBeAg ở những BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính [20]. Tăng ALT hoặc bùng phát ALT trên những BN giảm khả năng đáp ứng ở BN HBeAg âm tính hoặc bùng phát ở viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính. Những BN này có khả năng đạt được HBV-ADN dưới ngưỡng phát hiện nhưng BN có thể có ALT tăng liên tục hoặc một đáp ứng miễn dịch liên tục. Kết quả tương tự ở BN có HBeAg dương tính điều trị LdT đã được báo cáo bởi Guo-Cai và các đồng nghiệp ở Trung Quốc [107].

ALT bình thường sau 6 tháng dự báo kết quả điều trị sau 1 năm của các thuốc kháng vi rút loại NA. Những tài liệu trước đó đã chỉ ra ALT trước điều trị có giá trị tiên đoán đáp ứng điều trị IFN, tuy nhiên chưa được thuyết phục khi điều trị bằng các NA [76]. ALT bình thường vào tháng thứ 6 có mối tương quan đến đáp ứng vi

rút sau 1 năm điều trị NA, dự đoán HBV-ADN dưới ngưỡng phát hiện và đồng thời hồi phục sinh hóa và miễn dịch. Đây sẽ là một hướng dẫn dự đoán có giá trị cho điều trị các thuốc loại NA trong thực tế [76]. Nhìn chung kết quả điều trị viêm gan vi rút B mạn bằng các thuốc kháng vi rút loại NA có thể được dự báo bởi ALT trước điều trị và ALT trở về bình thường sau 6 tháng điều trị.

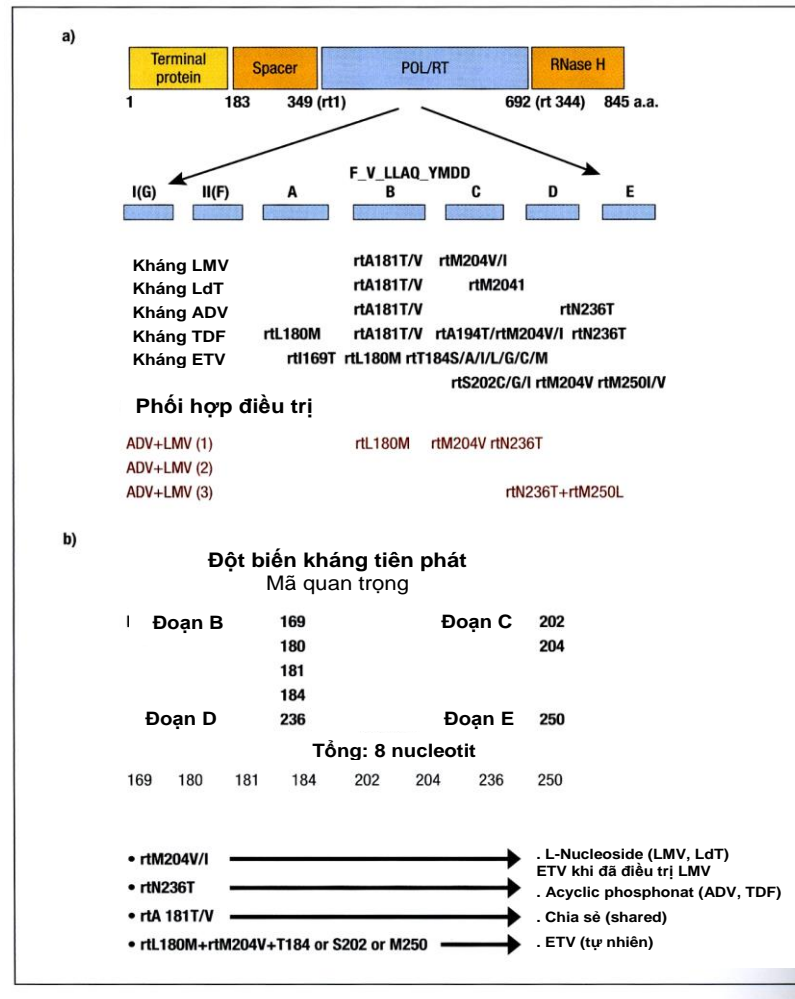
- Tuổi và giới tính: Những yếu tố cơ thể con người có thể ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị thuốc kháng vi rút như tuổi, giới. Kết quả nghiên cứu của các tác giả nhận thấy tỷ lệ nam giới không có sự khác biệt giữa nhóm BN đáp ứng vi rút so với nhóm BN đáp ứng vi rút một phần [161], Kết quả nghiên cứu 1 số tác giả nhận thấy tuổi của BN có đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị ETV cao hơn so với BN không đáp ứng vi rút [161]. Các tác giả cũng nhận thấy trong phân tích đơn biến tuổi, nam giới không có mối liên quan với đáp ứng vi rút và chuyển đảo huyết thanh HBeAg sau 12 tháng điều trị ETV ($p>0,05$) [91].

- Các yếu tố khác: Những yếu tố của cơ thể con người có thể ảnh hưởng đến kết quả điều trị thuốc kháng vi rút như IL28B, HLA... đang được nghiên cứu.

1.7. Kháng thuốc trong điều trị viêm gan vi rút B mạn

Những năm gần đây đột biến kháng thuốc của HBV đã được phát hiện ở những BN viêm gan vi rút B mạn điều trị thuốc kháng vi rút loại NA. Những đột biến này ức chế hiệu quả của thuốc kháng vi rút, ức chế sao chép ngược HBV polymerase và gây lên bùng phát vi rút. Mức độ nhân lên của HBV khá cao, ước tính lên đến 10^{11} virion/ngày. Tuy nhiên quá trình sao chép ngược không thể hiệu đính hoặc chỉnh sửa vì thế HBV rất dễ bị lỗi trong quá trình nhân lên và xuất hiện đột biến tự phát cao dẫn đến các đột biến kháng thuốc [79].

Các đột biến kháng thuốc thường xảy ra trong đoạn B, C và D của gen P (hình 1.8). Protein của HBV polymerase chứa nhiều đoạn tương đồng với ARN polymerase phụ thuộc khác. HBV kháng LMV khi xuất hiện đột biến M204V/I, A181T/V và M180M, kháng ADV với 2 đột biến A181V/T và N236T, kháng ETV với đột biến M204V/I, T184G, S202I/G, I169T, L180M hoặc M250V và kháng TDF với đột biến A194T, L180M, A184T/V, N236T và M204I/V [17],[44],[50],[101].



Hình 1.8: Sự phối hợp của các đột biến kháng thuốc [84]

Hàng rào di truyền là số lượng đột biến cần thiết để vi rút thoát ức chế bởi các thuốc kháng vi rút. Một loại thuốc cần nhiều đột biến trên bộ gen của vi rút để bị kháng thuốc là có hàng rào di truyền cao và tỷ lệ kháng thấp [143]. Vì vậy trong điều trị việc phối hợp thuốc nhằm tạo ra hàng rào di truyền cao hoặc sử dụng những thuốc có hàng rào di truyền cao nhằm hạn chế hiện tượng kháng thuốc. Đối với thuốc chỉ cần 1 đột biến có thể gây kháng thuốc là những thuốc có hàng rào di truyền thấp như LMV, ADV và LdT. Ngược lại ETV, TDF cần nhiều loại đột biến mới gây ra kháng thuốc, do đó ETV, TDF gọi là thuốc có hàng rào di truyền cao.

Trong quá trình điều trị viêm gan vi rút B mạn, kháng thuốc bắt đầu với những biến đổi trong gen P xuất hiện đột biến kháng với thuốc kháng vi rút làm giảm tính

nhạy cảm của HBV với các thuốc đang sử dụng và tăng tải lượng HBV-ADN. Khi tải lượng HBV-ADN huyết thanh tăng gấp 10 lần so với thời điểm thấp nhất, bùng phát vi rút xảy ra. Nếu không phát hiện sẽ tăng ALT với bùng phát sinh hóa và trên lâm sàng bùng phát viêm gan có thể xảy ra gây suy gan và tử vong. Vì vậy điều trị nên được thay đổi trước khi có biểu hiện lâm sàng [63].

Bảng 1.4: Kháng chéo của các chủng vi rút viêm gan B kháng thuốc [53]

Chủng vi rút viêm gan B	LAM	LdT	ETV	ADV	TDF
Chủng tự nhiên	S	S	S	S	S
Đột biến M204I	R	R	I	S	S
Đột biến L180M + M204V	R	R	I	S	S
Đột biến A181T/V	I	S	S	R	S
Đột biến N236T	S	S	S	R	I
Đột biến L180M + M204S/V/I ± I169T ± V173L ± M250V	R	R	R	S	S
Đột biến L180M + M204S/V/I ± T184G ± S202I/G	R	R	R	S	S

(S: Susceptibility - Nhạy cảm, R: Resistant - Kháng, I: Intermediate - Trung gian)

Một trong những vấn đề lâm sàng quan trọng của kháng thuốc là sự xuất hiện đa kháng. Đa kháng thuốc được xác định khi xuất hiện đề kháng với cả 2 loại NA. Điều này có thể gây ra bởi một đột biến hoặc nhiều đột biến trên bộ gen của vi rút. Một đột biến kháng thuốc xuất hiện do một thuốc kháng vi rút có thể kháng với một thuốc khác nhưng không tiếp xúc trước do “kháng chéo”. Mặc dù kháng chéo rất thường gặp giữa các loại thuốc trong cùng một lớp như tại M204I cho LMV và LdT, nó cũng có thể xuất hiện ở giữa các loại thuốc của các lớp khác nhau như đột biến A181T cả LMV và ADV với kết quả là hiện tượng đa kháng. Nhiều đột biến đa kháng với thuốc kháng vi rút có thể xuất hiện trên cùng bộ gen và kháng với cả 2 loại thuốc như đột biến L180M + M204V + N236T kháng cả LMV và ADV [170]. Điều trị với các thuốc có hàng rào di truyền thấp có khả năng dẫn đến đa kháng nhất

là khi sử dụng 1 thuốc. Đặc biệt đột biến kháng thuốc có thể lây truyền từ người này sang người khác.

Điều trị viêm gan vi rút B mạn kháng thuốc được khuyến cáo nên thay đổi điều trị khi tải lượng HBV-ADN trong máu thấp có hiệu quả hơn khi có bùng phát vi rút và kháng định kháng kiểu gen. Do đó không nên trì hoãn thay đổi điều trị sau khi chẩn đoán kháng thuốc để nâng cao hiệu quả điều trị. Lựa chọn điều trị viêm gan vi rút B mạn kháng thuốc dựa trên kháng chéo của các thuốc kháng vi rút và thuốc không có kháng chéo với thuốc trước nên được chọn.

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là các BN được chẩn đoán viêm gan vi rút B mạn và điều trị thuốc kháng vi rút tại khoa Truyền nhiễm - Bệnh viện Bạch Mai từ 8/2010 đến 02/2014. Chỉ định điều trị thuốc kháng vi rút là quy trình chuẩn bình thường của tất cả các BN vào khám và điều trị khi có chỉ định (Chỉ định điều trị thuốc kháng vi rút áp dụng theo hướng dẫn của các Hiệp hội Gan mật quốc tế, không phải là một áp đặt chủ ý mang tính bắt buộc của nghiên cứu viên để phục vụ cho mục tiêu nghiên cứu).

2.1.1. Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân

- Bệnh nhân có các tiêu chuẩn chẩn đoán viêm gan vi rút B mạn và điều trị thuốc kháng vi rút theo Hiệp hội Gan mật Mỹ năm 2009 [102] như sau:

HBsAg dương tính kéo dài ≥ 6 tháng.

Tải lượng HBV-ADN $\geq 2 \times 10^4$ IU/ml với HBeAg dương tính và tải lượng HBV-ADN $\geq 2 \times 10^3 - 10^4$ IU/ml với HBeAg âm tính.

ALT tăng ≥ 2 ULN. Nếu ALT tăng 1-2 ULN và tải lượng HBV-ADN cao theo tiêu chuẩn trên, BN được chỉ định sinh thiết gan hoặc đo Fibroscan có phản ứng viêm hoại tử mức độ vừa hoặc nặng và xơ gan (giai đoạn F2 trở lên theo thang điểm Metavir) được chỉ định điều trị thuốc kháng vi rút [52].

- Bệnh nhân chưa từng điều trị các thuốc kháng vi rút và BN bắt đầu được chỉ định điều trị thuốc kháng vi rút loại NA (ETV hoặc TDF).

- Bệnh nhân từ 16 tuổi trở lên.

- Bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân không đáp ứng tiêu chuẩn lựa chọn

- Bệnh nhân đồng nhiễm với HIV, HCV

- Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Sử dụng phương pháp nghiên cứu mô tả kết hợp với phân tích yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị thuốc kháng vi rút.

2.2.2. Địa điểm nghiên cứu

Khoa Truyền nhiễm - Bệnh viện Bạch Mai

2.2.3. Thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành từ 8/2010 đến 02/2014

2.2.4. Cỡ mẫu và cách chọn mẫu

- **Cỡ mẫu:** Sử dụng công thức tính cỡ mẫu cho nghiên cứu mô tả

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

Trong đó:

n là cỡ mẫu tối thiểu cần nghiên cứu

$Z_{(1-\alpha/2)}$ là hệ số tin cậy, với độ tin cậy 95% thì $Z_{(1-\alpha/2)} = 1,96$

$p = 0,75$ là tỷ lệ kiểu gen B của HBV theo [115], $p=75\%$ (0,75)

$d=0,06$ là độ chính xác mong muốn của nghiên cứu

Số cỡ mẫu tối thiểu cần nghiên cứu là 200 BN

- Cách chọn mẫu

Sử dụng kỹ thuật chọn mẫu thuận tiện, không xác suất. BN đến khám và điều trị tại khoa Truyền nhiễm - Bệnh viện Bạch Mai có đủ tiêu chuẩn nghiên cứu sẽ được tư vấn và lựa chọn liên tục để tham gia nghiên cứu tới khi đủ số lượng cỡ mẫu cần thu thập.

2.2.5. Vật liệu nghiên cứu

- Phiếu bệnh án nghiên cứu do nghiên cứu sinh xây dựng (Phụ lục 1A và phụ lục 1B).

- Mẫu bệnh phẩm máu để xét nghiệm huyết học (công thức máu và đông máu cơ bản) được chuyển đến khoa Huyết học Truyền máu - Bệnh viện Bạch Mai.

- Mẫu bệnh phẩm máu để xét nghiệm sinh hóa (ALT, AST, bilirubin toàn phần, albumin máu, α FP) được chuyển đến khoa Hóa sinh - Bệnh viện Bạch Mai.

- Mẫu bệnh phẩm máu để xét nghiệm huyết thanh học (HBeAg, anti-HBe, anti-HCV và HIV) được chuyển đến khoa Vi sinh y học - Bệnh viện Bạch Mai.

- Mẫu bệnh phẩm máu để xét nghiệm sinh học phân tử (tải lượng HBV-ADN, xác định đột biến PC/BCP, đột biến kháng thuốc và kiểu gen HBV) được chuyển đến Phòng thí nghiệm Chẩn đoán phân tử, Khoa Miễn dịch Sinh học phân tử - Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương.

Khoa Huyết học Truyền máu, khoa Hóa sinh, khoa Vi sinh y học – Bệnh viện Bạch Mai và Phòng thí nghiệm Chẩn đoán phân tử, Khoa Miễn dịch Sinh học phân tử - Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương đạt tiêu chuẩn chất lượng ISO 15189.

2.2.6. Quy trình theo dõi bệnh nhân

- Các BN đến khám và điều trị tại khoa Truyền nhiễm – Bệnh viện Bạch Mai thời gian từ 8/2010 - 2/2014 sẽ được sàng lọc và tuyển chọn theo tiêu chuẩn chọn BN của nghiên cứu. Sử dụng phương pháp chọn mẫu thuận tiện, không xác suất.

- Số lượng BN đủ tiêu chuẩn nghiên cứu (gồm 202 BN) được nghiên cứu sinh thăm khám bao gồm: Khám lâm sàng, thu thập mẫu máu xét nghiệm và số liệu theo mẫu bệnh án nghiên cứu (phụ lục 1A) bao gồm các thông tin:

Thông tin chung về BN, tiền sử bệnh và gia đình, khám lâm sàng.

Thu thập mẫu máu xét nghiệm huyết học (công thức máu, đông máu cơ bản), sinh hóa (ALT, AST, bilirubin toàn phần, albumin, α FP) và huyết thanh học (HBeAg, anti-HBe, HIV, anti-HCV).

Thu thập mẫu máu để làm xét nghiệm sinh học phân tử gồm đo tải lượng HBV-DNA, xác định kiểu gen HBV, đột biến PC/BCP và đột biến kháng thuốc. Các mẫu máu được ly tâm chiết huyết thanh và bảo quản để làm các xét nghiệm sinh học phân tử. Trong 202 BN nghiên cứu, chúng tôi tiến hành xét nghiệm xác định kiểu gen HBV, đột biến PC/BCP và đột biến kháng thuốc cho 121 BN hoàn thành

12 tháng điều trị thuốc kháng vi rút loại NA (ETV hoặc TDF), 81 BN còn lại bao gồm BN không theo dõi đủ 12 tháng hoặc BN mất theo dõi không thực hiện các xét nghiệm này.

Bệnh nhân được siêu âm gan mật đánh giá hình thái học của gan theo quy trình khám thường quy đối với BN.

Thu thập thông tin về thuốc điều trị: ETV hoặc TDF

Các BN nghiên cứu được phân tích các đặc điểm dịch tễ, sinh học phân tử, lâm sàng và cận lâm sàng.

- Các BN nghiên cứu được tiếp tục theo dõi điều trị theo đúng quy trình thường quy và hướng dẫn của các Hiệp hội Gan mật quốc tế.

- Bệnh nhân nghiên cứu được khám lại sau điều trị thuốc kháng vi rút 12 tháng để đánh giá hiệu quả điều trị thuốc kháng vi rút và từ đó phân tích các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị trên những BN tuân thủ điều trị bao gồm:

Khám lâm sàng và thu thập số liệu theo mẫu bệnh án nghiên cứu (Phụ lục 1B).

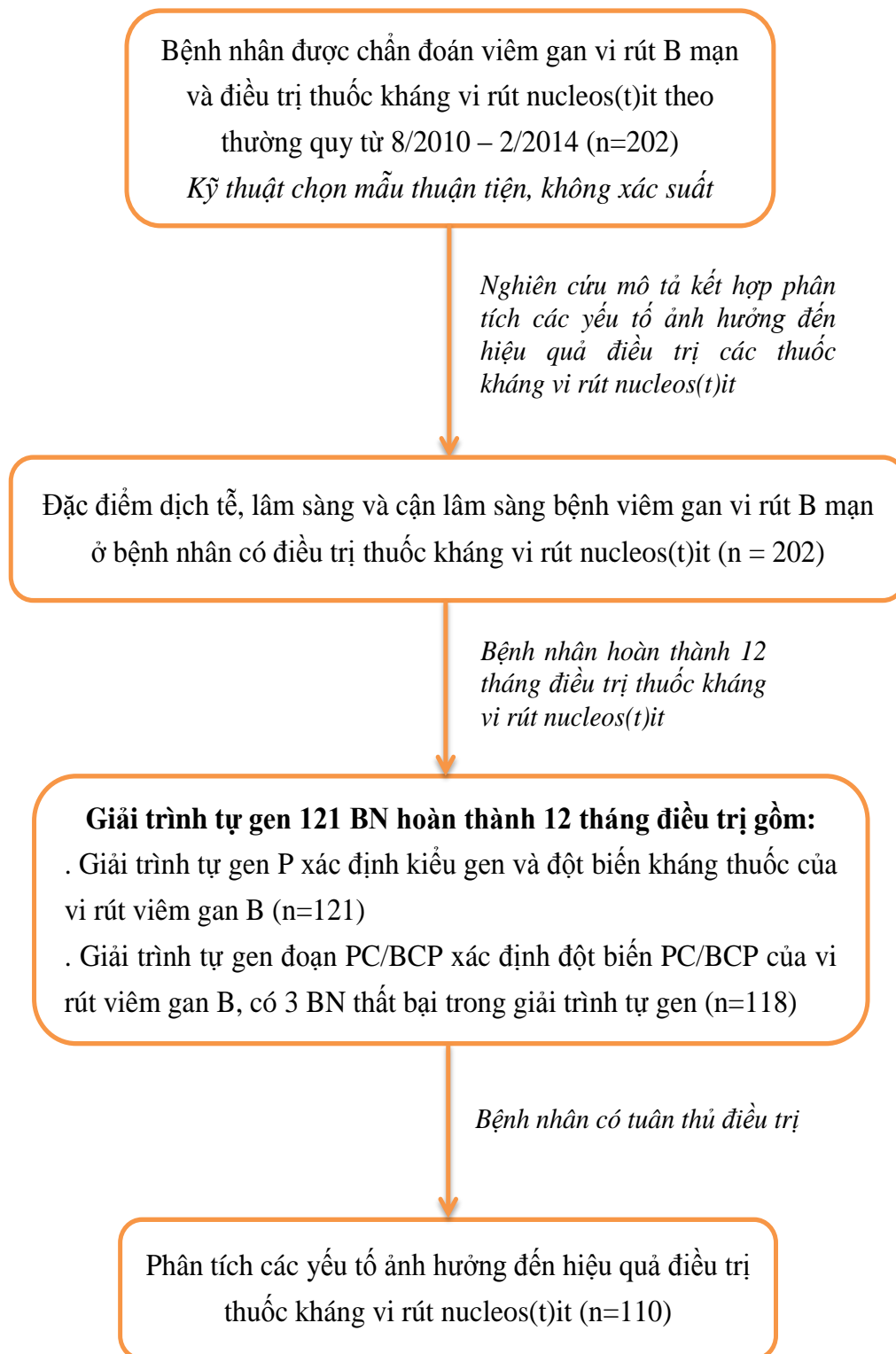
Thu thập mẫu máu xét nghiệm: Huyết học (công thức máu, đông máu cơ bản), sinh hóa (ALT, AST, bilirubin toàn phần, albumin và α FP), huyết thanh học (HBeAg, anti-HBe) và sinh học phân tử (định lượng HBV-DNA và đột biến kháng thuốc nếu BN có bùng phát vi rút) và các xét nghiệm khác theo thường quy điều trị.

Bệnh nhân được đánh giá tuân thủ điều trị thuốc kháng vi rút loại NA dựa theo thang điểm đánh giá tuân thủ điều trị thuốc kháng vi rút ở BN nhiễm HIV/AIDS của Bộ Y tế Việt Nam [4]. BN xác định tuân thủ điều trị khi được đánh giá tuân thủ tốt.

Bảng 2.1: Đánh giá mức độ tuân thủ điều trị [4]

Độ tuân thủ	Tỷ lệ % ngày uống thuốc/tháng	Số ngày quên/tháng
Tuân thủ tốt	$\geq 95\%$	≤ 2 ngày
Tuân thủ trung bình	85 - 94%	3 - 4 ngày
Tuân thủ kém	$< 85\%$	≥ 5 ngày

Tổng số 121 BN hoàn thành 12 tháng điều trị thuốc kháng vi rút loại NA có 110 BN tuân thủ điều trị trong đó 58 BN điều trị ETV và 52 BN điều trị TDF.



Hình 2.1: Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

Bảng 2.2: Nội dung theo dõi bệnh nhân nghiên cứu

Dấu hiệu theo dõi	Thời gian theo dõi	
	Trước điều trị	Sau 12 tháng
Khám lâm sàng	✓	✓
Đánh giá tuân thủ điều trị		✓
Siêu âm ổ bụng	✓	
Xét nghiệm sinh hóa (ALT, AST, bilirubin toàn phần, albumin máu và α FP)	✓	✓
Xét nghiệm huyết học (công thức máu, đông máu cơ bản)	✓	✓
Xét nghiệm huyết thanh học	Anti-HCV, HIV	✓
	HBeAg, Anti-HBe	✓
Xét nghiệm tải lượng HBV-ADN	✓	✓
Xác định kiểu gen HBV, đột biến kháng thuốc (giải trình tự gen P của HBV) và đột biến PC/BCP (G1896A, G1899A, A1762T và G1764A) (giải trình tự gen đoạn PC/BCP của HBV) ở những BN hoàn thành 12 tháng điều trị thuốc kháng vi rút loại NA	✓	Xác định đột biến kháng thuốc khi có bùng phát vi rút

2.2.7. Các kỹ thuật xét nghiệm**2.2.7.1. Xét nghiệm sinh hóa**

Xét nghiệm ALT, AST, α FP, bilirubin toàn phần, albumin máu thực hiện trên hệ thống máy sinh hóa tự động tại khoa Sinh hóa - Bệnh viện Bạch Mai.

Bảng 2.3: Giá trị bình thường các xét nghiệm sinh hóa [2]

Xét nghiệm	Nam giới	Nữ giới
ALT (U/L)	<41	<31
AST (U/L)	<37	<31
Bilirubin toàn phần (mmol/L)	<17	<17
Nồng độ albumin máu (g/L)	34 - 48	34 - 48
α FP máu (ng/ml)	<7	<7

2.2.7.2. Xét nghiệm huyết học

Xét nghiệm công thức máu và đông máu cơ bản được thực hiện tại khoa Huyết học Truyền máu - Bệnh viện Bạch Mai

Bảng 2.4: Giá trị bình thường các xét nghiệm huyết học [2]

Xét nghiệm	Nam giới	Nữ giới
Tiểu cầu máu ($10^9/L$)	150 - 450	150 - 450
Tỷ lệ prothrombin (%)	70 - 140	70 - 140
Fibrinogen máu (g/L)	2 - 4	2 - 4

2.2.7.3. Xét nghiệm huyết thanh học

Xét nghiệm huyết thanh học gồm HBeAg, Anti-HBe, anti-HCV và HIV sử dụng kỹ thuật ELISA được thực hiện tại khoa Vi sinh y học - Bệnh viện Bạch Mai.

- Nguyên lý xét nghiệm HBeAg

MonolisaTM HBeAg Plus là xét nghiệm miễn dịch enzym phát hiện HBeAg dựa trên nguyên lý “bánh kẹp” hai thì sử dụng các kháng thể HBe người và một cặp kháng thể HBe đơn dòng gắn enzym peroxidase (mab1 và mab2) kháng lại các điểm quyết định KN khác nhau

Kháng nguyên HBeAg (nếu có) trong mẫu bệnh phẩm sẽ kết hợp với kháng thể HBe gắn trên bề mặt giếng và tiếp tục kết hợp với kháng thể đơn dòng gắn enzym có trong chất cộng tạo thành phức hợp KT pha rắn – KN HBeAg – KT gắn enzym. Sự có mặt của phức hợp này được phát hiện thông qua sự đổi màu của cơ chất khi cho thêm chất hiện màu.

- Nguyên lý xét nghiệm Anti-HBe

Monolisa HBeAb Plus là xét nghiệm miễn dịch enzym dựa trên nguyên lý cạnh tranh. Kháng thể kháng HBeAg (nếu có) sẽ cạnh tranh với kháng thể cố định ở pha rắn để kết hợp với HBeAg với số lượng giới hạn có trong thuốc thử trung hòa tạo thành phức hợp KN-KT. Phức hợp này sẽ gắn với kháng thể đơn dòng gắn enzym có trong chất cộng hợp tạo thành phức hợp KT-KN-KT và làm biến đổi màu của cơ chất khi ta cho thêm chất hiện màu.

2.2.7.4. Xét nghiệm tải lượng HBV-ADN

Tải lượng HBV-ADN được đo bằng kỹ thuật Realtime PCR sử dụng sinh phẩm Abbott hoặc phương pháp In-House được cải tiến. Sử dụng cùng một phương pháp xét nghiệm để theo dõi trên mỗi BN điều trị thuốc kháng vi rút: 96 BN sử dụng phương pháp Abbott và 106 BN sử dụng phương pháp In-House.

*** Phương pháp Realtime PCR (Abbott)**

- Nguyên lý cơ bản:

Phương pháp Abbott Realtime sử dụng kỹ thuật PCR để tạo ra sản phẩm khuếch đại từ bộ gen của HBV trong mẫu bệnh phẩm. Lượng sản phẩm trình tự đích HBV tạo ra sau mỗi chu kỳ khuếch đại được xác định bởi đoạn Oligonucleotit đánh dấu huỳnh quang bám đặc hiệu vào sản phẩm khuếch đại. Chu kỳ khuếch đại mà tại đó tín hiệu huỳnh quang được phát hiện thấy bởi máy Abbott Realtime m2000rt tỉ lệ nghịch với tải lượng HBV-ADN có trong mẫu ban đầu.

Đường chuẩn để định lượng HBV-ADN được xây dựng dựa trên 2 mẫu chuẩn A và B, có nồng độ khác nhau (mỗi điểm nồng độ được đo lặp lại 3 lần). Giá trị Slope và Intercept của đường chuẩn, đặc trưng cho từng lô sinh phẩm được tính toán sau lần chạy mẫu chuẩn và lưu vào phần mềm m2000rt. Tải lượng HBV-ADN trong mẫu bệnh phẩm và mẫu chứng, được tính toán nội suy từ đường chuẩn đã dựng.

Việc thiết kế trình tự đích tại vùng có tính bảo thủ cao trên gen S đảm bảo khả năng phát hiện các kiểu gen A-H của HBV. Vị trí của trình tự đích tại đầu N của gen S đảm bảo phương pháp không bị ảnh hưởng bởi các loại đột biến (YMDD, đột biến tại HBsAg hoặc đột biến kháng thuốc), vì vùng này cần thiết để lắp ráp và tiết các mảnh dưới vi rút, nên chỉ có những thay đổi rất nhỏ về cấu trúc.

Phương pháp được hiệu chuẩn theo mẫu chuẩn quốc tế cho HBV-ADN của WHO. Kết quả được báo cáo dưới dạng số bản sao/ml hoặc đơn vị quốc tế/ml (IU/mL).

- Ngưỡng phát hiện: 15 IU/ml

- Nơi thực hiện xét nghiệm: Phòng thí nghiệm Chẩn đoán phân tử, Khoa Miễn dịch Sinh học phân tử, Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương.

* Phương pháp Realtime PCR (In-House)

- Nguyên lý cơ bản

Đoạn gen dài 120 bp trong vùng bảo thủ gen S của HBV được khuếch đại và phát hiện bằng phản ứng Real-time PCR, sử dụng cặp mồi và đầu dò đặc hiệu gắn huỳnh quang. Chu kỳ khuếch đại mà tại đó tín hiệu huỳnh quang được phát hiện thấy bởi máy Realtime Fast 7500 tỉ lệ nghịch với tải lượng HBV-ADN có trong mẫu ban đầu.

Chuẩn sử dụng để định lượng là HBV-ADN tổng hợp bằng phương pháp invitro-transcription. Đường chuẩn để định lượng HBV-ADN là đồ thị biểu diễn tương quan giữa chu kỳ khuếch đại với nồng độ 10^6 ; 10^5 ; 10^4 ; 10^3 ; 10^2 bản sao/ml. Tải lượng HBV-ADN trong mẫu bệnh phẩm sẽ được tính toán nội suy theo chu kỳ khuếch đại của mẫu đó từ đường chuẩn được trong mỗi lần xét nghiệm.

Phương pháp được hiệu chỉnh theo chuẩn HBV-ADN quốc tế, thế hệ 3 của WHO. Kết quả được báo cáo dưới dạng số bản sao/ml hoặc IU/mL.

- **Ngưỡng phát hiện:** 50 IU/ml

- **Nơi thực hiện xét nghiệm**

Phòng thí nghiệm Chẩn đoán phân tử, Khoa Miễn dịch Sinh học phân tử, Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương.

2.2.7.5. *Xác định đột biến PC/BCP, kiểu gen và đột biến kháng thuốc của vi rút viêm gan B*

- Nguyên lý cơ bản

Vùng gen PC/BCP dài 305 bp được khuếch đại bằng phản ứng PCR sử dụng mồi đặc hiệu Precore F1 và Precore R1. Vùng gen S và gen mã hóa polymerase (gen P) dài 1,1 bp được khuếch đại bằng phản ứng PCR với cặp mồi P4 và P5 cho phản ứng PCR vòng 1 và cặp mồi P5 và P6 cho phản ứng PCR vòng 2.

Sản phẩm PCR sau tinh sạch được tiến hành phản ứng Cycle sequencing sử dụng cặp mồi Precore F2, Precore R2 với gen PC/BCP và sử dụng 4 mồi P5, P6, Pol-F1 và S2-2 với gen S và gen P.

Sản phẩm Cycle sequencing sau tinh sạch được điện di trên máy ABI 3130 để giải trình tự.

Sử dụng phần mềm DNASTar/ Seqman để kết nối các trình tự thu được bằng các môi riêng biệt thành 1 trình tự gen hoàn chỉnh.

Trình tự được đăng tải lên trang web <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST> (NCBI Blast) để so sánh với trình tự tham chiếu, từ đó xác định đột biến PC tại vị trí 1896 (G1896A) và đột biến BCP tại vị trí 1762 và 1764 (A1762T và G1764A) hoặc trang web trực tuyến <http://hbv.bioinf.mpi-inf.mpg.de/index.php> để xác định kiểu gen và các loại đột biến của HBV.

- Môi sử dụng cho phản ứng PCR và Cycle sequencing

Sử dụng cặp môi đặc hiệu Precore F1/Precore R1 khuếch đại đoạn gen vùng PC/BCP. Giải trình tự đoạn gen vùng PC/BCP sử dụng 1 môi xuôi Precore F2 và 1 môi ngược Precore R2.

Đoạn gen P được khuếch đại bằng cặp môi đặc hiệu P4/P5. Sản phẩm sau PCR được giải trình tự bằng 4 môi gồm 2 môi xuôi (P6/Pol-F1) và 2 môi ngược (P5/S2-2)

Bảng 2.5: Trình tự môi khuếch đại và giải trình tự đoạn gen PC/BCP và gen P để xác định đột biến PC/BCP, kiểu gen và đột biến kháng thuốc

TT	Tên môi	Trình tự	Mục đích sử dụng	
			PCR	Giải trình tự
1	Gen PC/BCP			
	Precore F1	5'-TCTTGCCCAAGGTCTTACAT-3'	X	
	Precore F2	5'-GGTCTTACATAAGAGGAC-3'		X
	Precore R1	5'-AACGAGAGTAACTCCACAG-3'	X	
	Precore R2	5'-TAACTCCACAGTAGCTCCA-3'		X
2	Gen P			
	P4	5'-GCCTCATTTTGYGGGTCACCATA-3'	X	
	P5	5'-TTCKTTGACADACTTCCA-3'	X	X
	P6	5'-TTGGGGTGGAGCCCTCAGGCT-3'		X
	S2-2	5'-GGCACTAGTAACTGAGCCA-3'		X
	Pol-F1	5'-TATCGCTGGATGTGTCTG-3'		X

- Các hóa chất và sinh phẩm

Các hóa chất và sinh phẩm sử dụng để xác định đột biến PC/BCP, kiểu gen HBV và các đột biến kháng thuốc bao gồm:

Bảng 2.6: Các hóa chất và sinh phẩm xác định đột biến PC/BCP, kiểu gen và đột biến kháng thuốc

TT	Tên hóa chất và sinh phẩm
1	Sinh phẩm tách chiết ADN: QIAamp Viral DNA mini - Qiagen.
2	Sinh phẩm cho phản ứng Nested PCR: Expand™ High Fidelity PCR System - Roche, dNTPs - Invitrogen Mồi sử dụng
3	Sinh phẩm tinh sạch sản phẩm sau PCR: ExoSAP-IT PCR Cleanup - GE Healthcare với gen PC/BCP Illustra ExoStar - GE Healthcare với gen polymerase
4	Hóa chất dùng để chạy điện di trên gel agarose: Ultra Pure™ Agarose 100g - Invitrogen. 50X TAE Buffer Trackit™ 1kb DNA Ladder - Invitrogen. SYBR Safe DNA gel stain - Invitrogen. 6X Loading Dye - Fermentas.
5	Sinh phẩm cho phản ứng Cycle sequencing: BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing - Applied Biosystem. BigDye v3.1 Reaction Mix 5X BigDye Buffer
6	Hóa chất để điện di mao quản trên máy ABI 3130 3100 POP-6™ polymer - ABI. 10X Genetic Analyser Buffer with EDTA - ABI. Hi-Di™ Formamide - ABI.
7	Hóa chất tinh sạch sản phẩm sau phản ứng Cycle sequencing: ZR DNA Sequencing clean-up Kit™
8	Nước không chứa nuclease,
9	Sodium hypochloride 2%
10	Virkon 2%
11	Ethanol 70%

- Trang thiết bị xác định đột biến PC/BCP, kiểu gen và đột biến kháng thuốc

Tủ an toàn sinh học, tủ PCR chamber

Máy PCR C1000, máy điện di, máy đọc gel VESADOC, máy ABI 3130

Máy ly tâm 5415R, máy ly tâm nhanh Mini-spin

Máy lắc và máy lọc nước Milli-Q

Tủ lạnh +4°C bảo quản sản phẩm và bảo quản sản phẩm PCR

Tủ lạnh -20°C bảo quản sản phẩm PCR và giải trình tự

Pipet tự động, đơn kênh có thể tích hút từ 10→1000µl.

Pipet tự động 8 kênh, thể tích 10 → 100µl

- Loại mẫu bệnh phẩm

Huyết tương (sử dụng chất chống đông K2EDTA)

Mẫu huyết tương có tải lượng HBV-ADN trên 1000 IU/ml

- Đánh giá kết quả:

Xác định đột biến PC/BCP[75]

Đột biến PC G1896A: Thay thế G tại nucleotit 1896 bằng A

Đột biến PC G1899A: Thay thế G tại nucleotit 1899 bằng A

Đột biến BCP A1762T: Thay thế A tại nucleotit 1762 bằng T

Đột biến BCP G1764A: Thay thế G tại nucleotit 1762 bằng A

Xác định đột biến kháng thuốc [84]

Đột biến kháng LMV: M204V/I, A181T/V và L180M

Đột biến kháng ADV: A181V/T, N236T

Đột biến kháng LdT: A181V/T, M204I

Đột biến kháng ETV: T184G, S202I/G, M250V/I, I169T, M204V/I và L180M

Đột biến kháng TDF: A194T, L180M, N236T, A184T/V, M204I/V

Xác định kiểu gen của HBV

Xác định các kiểu gen của HBV: kiểu gen B, C và các kiểu gen khác

- Nơi thực hiện xét nghiệm

Phòng thí nghiệm Chẩn đoán phân tử, Khoa Miễn dịch Sinh học phân tử, Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương

2.2.8. Một số định nghĩa dùng trong luận án

2.2.8.1. Viêm gan vi rút B mạn

Viêm gan vi rút B mạn là hiện tượng viêm hoại tử gan mạn tính nguyên nhân do nhiễm vi rút viêm gan B kéo dài trên 6 tháng. Viêm gan vi rút B mạn được chia thành viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính và HBeAg âm tính [102].

2.2.8.2. Đánh giá đáp ứng điều trị

Đáp ứng sinh hóa: Giảm ALT trong giới hạn bình thường [53].

Đáp ứng huyết thanh HBeAg chỉ đánh giá với những BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính: Mất HBeAg và chuyển đảo huyết thanh anti-HBe [53].

Đáp ứng vi rút: Xác định khi tải lượng HBV-ADN dưới ngưỡng phát hiện được bằng phương pháp PCR ở tuần điều trị thứ 48 [52],[53].

Không đáp ứng vi rút: Xác định khi tải lượng HBV-ADN còn phát hiện được bằng phương pháp PCR ở tuần điều trị thứ 48.

2.2.8.3. Đánh giá kháng thuốc kháng vi rút trong quá trình điều trị

Bùng phát vi rút: Xác định khi tải lượng HBV-ADN tăng nhiều hơn 1 log₁₀ IU/ml so với tải lượng HBV-ADN thấp nhất trong quá trình điều trị [52],[53].

Bùng phát sinh hóa: Tăng ALT trên mức giới hạn bình thường sau khi trở về bình thường trong thời gian điều trị [52],[53].

2.2.8.4. Đột biến PC/BCP

Không có đột biến PC/BCP (Chủng tự nhiên): không có đột biến PC/BCP (PC G1896G/G1899G, BCP A1762A/G1764G).

Đột biến PC: Đột biến PC G1896A và/hoặc PC G1899A

Đột biến BCP: Đột biến BCP A1762T và/hoặc BCP G1764A

Đột biến PC/BCP: Đột biến PC kết hợp với đột biến BCP

2.2.9. Các biến số và các chỉ số trong nghiên cứu

- *Phân chia tuổi theo các mức độ:*

Chia thành 5 nhóm cách nhau 10 tuổi gồm các nhóm: <30 tuổi, 30-<40 tuổi, 40-<50 tuổi, 50-<60 tuổi và ≥ 60 tuổi

Chia 2 nhóm dựa theo hướng dẫn của AASLD 2009: <40 tuổi và ≥ 40 tuổi [102]

- *Phân bố theo địa dư:*

Phân bố theo đơn vị hành chính chia thành 2 nhóm: Nhóm BN sống tại Hà Nội và nhóm BN sống tại các tỉnh khác

- *Xét nghiệm sinh hóa và huyết học:*

ALT chia thành các mức độ: <2 ULN, 2-<5 ULN và ≥ 5 ULN

AST chia thành các mức độ: <2 ULN, 2-<5 ULN và ≥ 5 ULN

Nồng độ albumin máu chia thành 2 nhóm dựa trên giá trị bình thường là 34 g/L: <34 g/L và ≥ 34 g/L

Nồng độ bilirubin máu toàn phần chia thành 2 nhóm dựa trên giá trị bình thường là 17 mmol/L: <17 g/L và ≥ 17 g/L

Nồng độ α FP máu chia thành 3 nhóm dựa trên giá trị bình thường là 7 ng/ml: <7 ng/ml, 7-<35 ng/ml và ≥ 35 ng/ml.

Tỷ lệ prothrombin chia thành 2 nhóm: <60% và $\geq 60\%$

Nồng độ fibrinogen chia thành 2 nhóm dựa trên giá trị bình thường là ≥ 2 g/L: <2 g/L và ≥ 2 g/L

Số lượng tiểu cầu chia thành 2 nhóm dựa trên giá trị bình thường từ 150 - 450 x 10⁹/L: <150 x 10⁹/L và ≥ 150 x 10⁹/L.

- *Tải lượng HBV-ADN:*

Phân chia các nhóm: 3-<5 log₁₀IU/ml, 5-<8 log₁₀IU/ml và ≥ 8 log₁₀IU/ml.

Bảng 2.7: Các biến số và chỉ số trong nghiên cứu

Biến số	Chỉ số nghiên cứu	Thu thập thông tin
Đặc điểm dịch tễ học		
Tuổi	Tỷ lệ phân bố theo phân chia thang 10 tuổi, mốc 40 tuổi (%) và tuổi trung bình (năm tuổi) chung và theo giới tính Tuổi trung bình theo đáp ứng vi rút (có và không đáp ứng vi rút)	Bệnh án nghiên cứu (CRF) và thuật toán thống kê
Giới tính	Tỷ lệ nam giới và nữ giới: Chung, kiểu gen HBV và theo đáp ứng vi rút (có và không đáp ứng vi rút) (%)	
Nghề nghiệp	Tỷ lệ phân bố nghề nghiệp chung và theo giới tính (%)	
Địa dư	Tỷ lệ các khu vực sống (%), tỷ lệ theo 2 nhóm đơn vị hành chính (%)	
Hôn nhân	Tỷ lệ tình trạng hôn nhân chung và theo 2 nhóm đơn vị hành chính (%)	
Trình độ học vấn	Tỷ lệ trình độ học vấn theo 5 bậc học và theo 2 nhóm đơn vị hành chính (%)	
Tiêm vắc xin viêm gan B và uống rượu	Tỷ lệ tiêm vắc xin và uống rượu (%)	
Thời gian phát hiện nhiễm HBV đến khi khám bệnh	Tỷ lệ thời gian phát hiện nhiễm HBV theo 4 mức độ 6-<12 tháng, 1-<5 năm, 5-<10 năm và ≥ 10 năm chung, 2 nhóm đơn vị hành chính và 2 nhóm tuổi (<40 tuổi và ≥ 40 tuổi) (%)	
Tuổi phát hiện nhiễm HBV đầu tiên	Tỷ lệ nhóm tuổi phát hiện nhiễm HBV đầu tiên chung, 2 nhóm đơn vị hành chính và 2 nhóm tuổi (<40 tuổi và ≥ 40 tuổi) (%)	
Nhiễm HBV, HCC trong gia đình	Tỷ lệ nhiễm HBV và HCC của các thành viên trong gia đình (%)	

Sinh học phân tử		CRF, phiếu xét nghiệm và thuật toán thống kê
Tải lượng HBV-ADN	Tỷ lệ phân bố (%) theo 3 mức độ (3-<5, 5-<8 và ≥8) và giá trị trung bình (\log_{10} IU/ml) chung, kiểu gen HBV, giới tính, nhóm tuổi và đáp ứng vi rút (có và không đáp ứng vi rút)	
Kiểu gen HBV	Tỷ lệ kiểu gen B và C chung, nhóm tuổi và đáp ứng vi rút (có và không đáp ứng vi rút) (%)	
Đột biến PC/BCP	Tỷ lệ từng đột loại đột biến (PC G1896A, PCG1899A, BCP A1762T và BCPG1764A) chung, theo kiểu gen HBV, nhóm tuổi, tỷ lệ đột biến kép, phối hợp đột biến (%) Mối liên quan giữa của đột biến PC, BCP và phối hợp PC/BCP với tuổi trung bình, nhóm tuổi, giới tính và HBV-DNA (chung, HBeAg dương tính và HBeAg âm tính) Tỷ lệ từng đột biến PC/BCP theo đáp ứng vi rút và không đáp ứng vi rút (%) (chung và từng loại thuốc ETV hoặc TDF)	
Đột biến kháng thuốc	Tỷ lệ từng vị trí đột biến kháng thuốc trước điều trị và sau điều trị ETV hoặc TDF 12 tháng (%): M204I/V, I169T, V173L, L180M, A181T/V, T184G, S202I/G, N236T và M250V	
Lâm sàng		
Các triệu chứng lâm sàng	Tỷ lệ % chung, tỷ lệ % theo 2 nhóm BN (<40 tuổi và ≥40 tuổi) và tỷ lệ % theo 2 kiểu gen HBV của từng triệu chứng	CRF và thuật toán thống kê
Cận lâm sàng		
Số lượng tiểu cầu (10^9 /L), tỷ lệ prothrombin (%) và nồng độ fibrinogen (g/l)	Tỷ lệ theo 2 mức độ và giá trị trung bình chung, theo kiểu gen HBV và nhóm tuổi (%). Giá trị trung bình theo đáp ứng vi rút (có và không đáp ứng vi rút)	CRF, phiếu xét nghiệm và thuật toán thống kê

ALT	Tỷ lệ theo 3 mức độ (%) và giá trị trung bình (U/L) chung, theo kiểu gen HBV, nhóm tuổi và đáp ứng vi rút (có và không đáp ứng vi rút). Liên quan giữa ALT trung bình với đột biến PC/BCP (chung, HBeAg dương tính và HBeAg âm tính)	
AST	Tỷ lệ theo 3 mức độ (%) và giá trị trung bình (U/L) chung, theo kiểu gen HBV và nhóm tuổi. Giá trị AST trung bình theo đáp ứng vi rút (có và không đáp ứng vi rút) (U/L)	
Nồng độ albumin máu (g/L) và bilirubin toàn phần (mmol/L)	Tỷ lệ theo 2 mức độ (%) và nồng độ trung bình chung, theo kiểu gen HBV và nhóm tuổi. Giá trị trung bình theo đáp ứng vi rút (có và không đáp ứng vi rút)	
α FP máu	Tỷ lệ theo 3 mức độ (%) và giá trị trung bình (ng/ml) chung, theo kiểu gen HBV và nhóm tuổi.	
HBeAg và anti-HBe	Tỷ lệ dương tính và âm tính, tỷ lệ phân bố theo kiểu gen HBV, nhóm tuổi, đáp ứng vi rút (có và không đáp ứng vi rút) (%) Liên quan giữa HBeAg với đột biến PC/BCP (chung, kiểu gen B và C)	
Yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị		
Đáp ứng vi rút	Tỷ lệ đáp ứng vi rút và không đáp ứng vi rút, tỷ lệ bùng phát vi rút (chung, thuốc ETV và TDF) (%)	Thuật toán thống kê và hồi quy logistic đơn biến và đa biến
Đáp ứng sinh hóa và huyết thanh HBeAg	Tỷ lệ đáp ứng sinh hóa và đáp ứng huyết thanh HBeAg (chung, thuốc ETV và TDF) (%)	
Tuổi	Phân tích đơn biến và đa biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng vi rút, huyết thanh HBeAg và sinh hóa)	
Nam giới	Phân tích đơn biến và đa biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng vi rút và huyết thanh HBeAg) Phân tích đơn biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng sinh hóa)	

ALT, AST	Phân tích đơn biến và đa biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng vi rút, huyết thanh HBeAg và sinh hóa)
Nồng độ albumin và bilirubin toàn phần	Phân tích đơn biến và đa biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng vi rút, huyết thanh HBeAg và sinh hóa)
Tỷ lệ prothrombin	Phân tích đơn biến và đa biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng huyết thanh HBeAg) Phân tích đơn biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng vi rút và sinh hóa)
Nồng độ fibrinogen	Phân tích đơn biến và đa biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng vi rút và huyết thanh HBeAg) Phân tích đơn biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng sinh hóa)
Số lượng tiểu cầu	Phân tích đơn biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng vi rút, huyết thanh HBeAg và sinh hóa)
HBeAg âm tính,	Phân tích đơn biến và đa biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng vi rút và sinh hóa)
Anti-HBe dương tính	Phân tích đơn biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng vi rút)
Đột biến PC G1896A và BCP A1762T	Phân tích đơn biến và đa biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng vi rút, huyết thanh HBeAg và sinh hóa)
PC G1899A	Phân tích đơn biến và đa biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng huyết thanh HBeAg và sinh hóa) Phân tích đơn biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng vi rút)
BCP G1764A	Phân tích đơn biến và đa biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng vi rút và sinh hóa) Phân tích đơn biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng huyết thanh HBeAg)
BCP A1762T/G1764A	Phân tích đơn biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng vi rút, huyết thanh HBeAg và sinh hóa)
Kiểu gen B của HBV và tải lượng HBV-ADN	Phân tích đơn biến và đa biến: OR, 95%CI và p (Đáp ứng vi rút, huyết thanh HBeAg và sinh hóa)

2.3. Phân tích số liệu

- Số liệu được nhập theo chương trình EpiData 3.1 và phân tích theo phương pháp thống kê y học trên phần mềm Stata 10.0. Tính tỉ lệ %, giá trị trung bình, áp dụng các thuật toán thống kê khi so sánh trung bình, tỷ lệ % các nhóm và phân tích hồi quy logistic đơn biến, đa biến.

- So sánh tìm sự khác biệt giữa các biến định lượng

So sánh tìm sự khác biệt của 2 nhóm độc lập với phân bố số liệu không chuẩn sẽ sử dụng thuật toán thống kê “Mann-Whitney”, số liệu phân bố chuẩn sử dụng thuật toán thống kê “T-test”.

So sánh tìm sự khác biệt cho số liệu của trên 2 nhóm với phân bố số liệu không chuẩn sử dụng thuật toán thống kê “Kruskal Wallis”.

- So sánh tìm sự khác biệt giữa các biến định tính

Khi so sánh tìm sự khác biệt của hơn 1 nhóm sử dụng thuật toán thống kê “Khi bình phương” khi tần số mong đợi trong các ô lớn hơn 5 và thuật toán “Fishers exact” khi tần số mong đợi của 1 ô nào đó nhỏ hơn 5.

- Sử dụng phân tích “Hồi quy logistic đơn biến và đa biến” cho các biến nhị phân và biến liên tục

Biến phụ thuộc là đột biến PC/BCP (1: đột biến và 0: không đột biến PC/BCP) với biến độc lập là biến nhị phân là nam giới (1: nam và 0: nữ), biến liên tục là tuổi và tải lượng HBV-ADN.

Các biến phụ thuộc là đáp ứng vi rút (1: có đáp ứng và 0: không đáp ứng), đáp ứng huyết thanh HBeAg (1: có đáp ứng và 0: không đáp ứng) và đáp ứng sinh hóa (1: có đáp ứng và 0: không đáp ứng) sau điều trị thuốc kháng vi rút 12 tháng. Các biến độc lập là biến nhị phân gồm: giới tính (1: nam và 0: nữ), HBeAg (1: âm tính và 0: dương tính), anti-HBe (1: dương tính và 0: âm tính), kiểu gen HBV (1: kiểu gen B và 0: kiểu gen C), đột biến PC/BCP (PC G1896T, PC G1899A, BCP A1762T, BCP G1764A) (1: có đột biến và 0: không có đột biến). Các biến độc lập là các biến liên tục gồm: tuổi, ALT, AST, albumin máu, bilirubin toàn phần, tỷ lệ prothrombin, nồng độ fibrinogen, số lượng tiểu cầu, tải lượng HBV-ADN.

2.4. Đạo đức trong nghiên cứu

Đề cương nghiên cứu được thông qua trước Hội đồng khoa học và Hội đồng đạo đức của Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương và Bệnh viện Bạch Mai. Các BN nghiên cứu được thông báo, giải thích về mục đích và nội dung sẽ tiến hành nghiên cứu. Những BN không đồng ý tham gia nghiên cứu đều được chấp nhận, không ảnh hưởng tới chất lượng điều trị và cách đối xử. Các số liệu về sức khỏe của BN nghiên cứu được giữ bí mật. Khi công bố kết quả về khoa học cũng không nêu tên cụ thể từng bệnh nhân.

CHƯƠNG 3

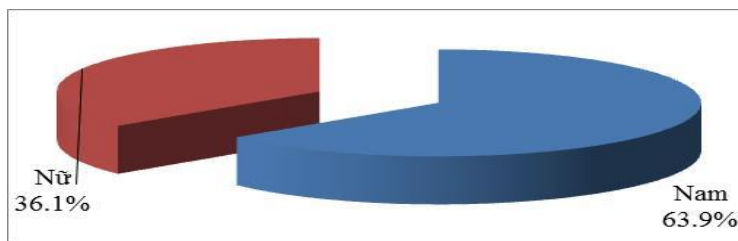
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong thời gian từ 8/2010 đến 2/2014, tuyển chọn được 202 BN chẩn đoán viêm gan vi rút B mạn đủ tiêu chuẩn nghiên cứu được khám và điều trị tại khoa Truyền nhiễm - Bệnh viện Bạch Mai.

3.1. Đặc điểm dịch tễ và sinh học phân tử

3.1.1. Đặc điểm dịch tễ học

Phân tích một số đặc điểm dịch tễ học trên 202 BN nghiên cứu chúng tôi thu được các kết quả sau:



Biểu đồ 3.1: Phân bố theo giới tính (n=202)

Tỷ lệ nam giới cao hơn nữ giới với 63,9% nam giới và 36,1% nữ giới

Bảng 3.1: Phân bố bệnh nhân theo tuổi

Phân bố tuổi		Nam giới [1]	Nữ giới [2]	Tổng		p[1,2]
<40 tuổi (n/%)	<30 tuổi	38 (29,5)	20 (27,4)	58 (28,7)	106 (52,5)	0,87 ⁽¹⁾
	30 -<40 tuổi	28 (21,6)	20 (27,4)	48 (23,8)		
≥40 tuổi (n/%)	40 -<50 tuổi	29 (22,5)	13 (17,8)	42 (20,8)	96 (47,5)	
	50 -<60 tuổi	22 (17,1)	12 (16,4)	34 (16,8)		
	≥ 60 tuổi	12 (9,3)	8 (11,0)	20 (9,9)		
Tổng (n/%)		129 (100)	73 (100)	202 (100)		
Mean ± SD (tuổi)		39,4 ± 13,9	40,0 ± 14,0	39,6 ± 13,9		0,74 ⁽²⁾
Min-max		18 - 78	17 - 70	17 - 78		

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Khi bình phương và ⁽²⁾Mann-Whitney)
(Mean: giá trị trung bình, SD: độ lệch chuẩn, min: giá trị nhỏ nhất, max: giá trị lớn nhất)

Kết quả cho thấy tuổi trung bình của BN là 39,6 ± 13,9 (tuổi), BN nhỏ tuổi nhất là 17 tuổi và cao tuổi nhất là 78 tuổi, 52,5% số BN dưới 40 tuổi trong đó gần 1/3 số BN dưới 30 tuổi (28,7%), tỷ lệ BN ở các nhóm cao tuổi giảm dần và 9,9% BN ≥60 tuổi. So sánh phân bố các nhóm tuổi và tuổi trung bình của BN nam giới và nữ giới không có sự khác biệt (p>0,05).

Bảng 3.2: Phân bố bệnh nhân theo nghề nghiệp

Nghề nghiệp	Nam giới (n/%) [1]	Nữ giới (n/%) [2]	Tổng (n/%)	p[1,2]
Công nhân	15 (11,6)	1 (1,4)	16 (7,9)	0,02
Làm ruộng	16 (12,4)	16 (21,9)	32 (15,8)	
Viên chức hành chính	36 (27,9)	18 (24,7)	54 (26,7)	
Học sinh, sinh viên	15 (11,6)	6 (8,2)	21 (10,4)	
Buôn bán	8 (6,2)	6 (8,2)	14 (6,9)	
Hưu trí	15 (11,6)	8 (11,0)	23 (11,4)	
Giáo viên	4 (3,1)	9 (12,3)	13 (6,4)	
Khác	20 (15,6)	9 (12,3)	29 (14,5)	
Tổng	129 (100)	73 (100)	202 (100)	

(Áp dụng thuật toán thống kê: Fisher's exact)

Tỷ lệ BN viên chức hành chính là 26,7%, làm ruộng 15,8%, hưu trí 11,4%, học sinh - sinh viên 10,4% Phân tích phân bố nghề nghiệp theo giới tính của BN có sự khác biệt giữa nam và nữ giới như tỷ lệ BN là công nhân ở nam giới cao hơn nữ giới (11,6% so với 1,4%), làm ruộng và giáo viên ở BN nữ giới cao hơn nam giới (tương ứng 21,9% so với 12,4% và 12,3% so với 3,1%) (p=0,02)

Bảng 3.3: Phân bố bệnh nhân theo địa dư

Đặc điểm		n	Tỷ lệ %
Khu vực sống	Thành phố/thị xã	112	55,4
	Nông thôn	85	42,1
	Miền núi	5	2,5
	Tổng	202	100
Phân bố theo đơn vị hành chính	Thành phố Hà Nội	123	60,9
	Các tỉnh khác	79	39,1
	Tổng	202	100

Phần lớn BN hiện tại sống ở các thành phố, thị xã (chiếm 55,4%) và đa số BN sống tại thành phố Hà Nội (60,9%), chỉ có 39,1% BN sống tại tỉnh, thành phố khác.

Bảng 3.4: Phân bố bệnh nhân theo trình độ học vấn và tình trạng hôn nhân

Đặc điểm		n	Tỷ lệ %
Trình độ học vấn	Tiểu học	7	3,5
	Trung học cơ sở	17	8,4
	Trung học phổ thông	70	34,7
	Trung học chuyên nghiệp	28	13,9
	Cao đẳng/đại học/sau đại học	80	39,5
	Tổng	202	100
Tình trạng hôn nhân	Có vợ/chồng và sống cùng	167	82,7
	Chưa có vợ/chồng	35	17,3
	Tổng	202	100

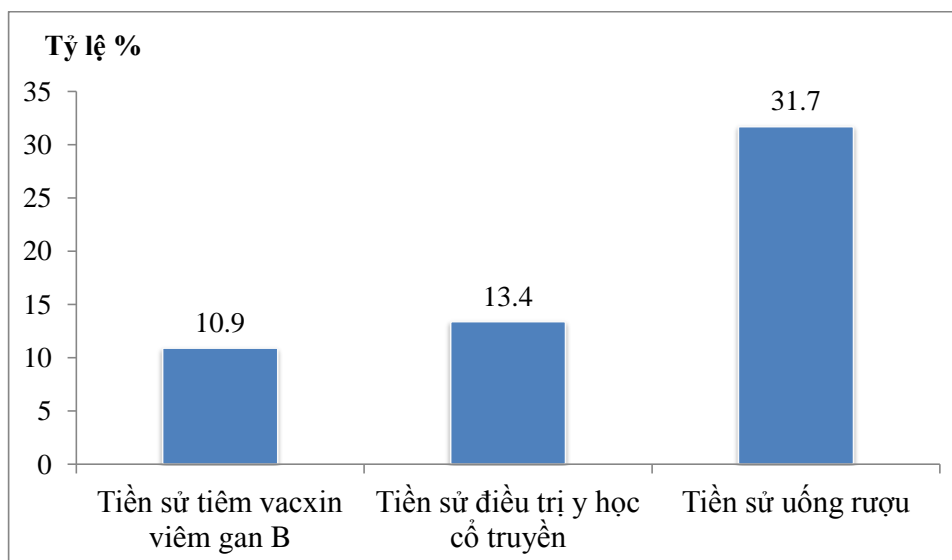
Đa số BN trong nghiên cứu đã lấy vợ/chồng và sống cùng chiếm 82,7% BN. Phần lớn BN có trình độ từ trung học phổ thông trở lên (88,1%) trong đó BN có trình độ cao đẳng, đại học và sau đại học chiếm 39,5%.

Bảng 3.5: Phân bố trình độ học vấn và tình trạng hôn nhân của bệnh nhân theo đơn vị hành chính

Đặc điểm		Hà Nội (n/%)	Các tỉnh khác (n/%)	p
Trình độ học vấn	Tiểu học	5 (4,1)	2 (2,5)	0,53 ⁽¹⁾
	Trung học cơ sở	9 (7,3)	8 (10,1)	
	Trung học phổ thông	44 (36,8)	26 (32,9)	
	Trung học chuyên nghiệp	15 (12,2)	13 (16,5)	
	Cao đẳng/đại học/sau đại học	50 (40,7)	30 (40,0)	
	Tổng	123 (100)	79 (100)	
Tình trạng hôn nhân	Có vợ/chồng và sống cùng	19 (15,4)	16 (20,3)	0,45 ⁽²⁾
	Chưa có vợ/chồng	104 (84,6)	63 (79,7)	
	Tổng	123 (100)	79 (100)	

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Fisher's exact và ⁽²⁾Khi bình phương)

Phân tích đặc điểm về trình độ học vấn và tình trạng hôn nhân của những BN sống tại Hà Nội và những tỉnh khác nhận thấy không có sự khác biệt giữa những BN hiện sống tại Hà Nội với những BN sống ở các tỉnh khác ($p > 0,05$).



Biểu đồ 3.2: Tiền sử tiêm phòng vắc xin viêm gan B, điều trị y học cổ truyền và uống rượu (n=202)

Trong 202 BN nghiên cứu: 31,7% BN có tiền sử uống rượu, 10,9% BN tiêm vắc xin phòng HBV và 13,4% số BN sau khi phát hiện nhiễm HBV đã điều trị bằng các thuốc y học cổ truyền.

Bảng 3.6: Thời gian phát hiện nhiễm vi rút viêm gan B

Đặc điểm		n	Tỷ lệ %
Thời gian phát hiện nhiễm HBV đến khi đến khám bệnh	6 - <12 tháng	88	43,6
	1 - <5 năm	62	30,7
	5 - <10 năm	34	16,8
	≥ 10 năm	18	8,9
	Tổng	202	100
Tuổi phát hiện nhiễm HBV đầu tiên	6 - <16 tuổi	3	1,5
	≥16 tuổi	199	98,5
	Tổng	202	100

Đa số BN phát hiện nhiễm HBV khi ≥ 16 tuổi (chiếm 98,5%) và 74,3% BN có thời gian phát hiện nhiễm HBV đến khi khám bệnh <5 năm trong đó 43,6% BN từ 6 - <12 tháng và 30,7% BN từ 1 - <5 năm.

Bảng 3.7: Thời gian phát hiện nhiễm vi rút viêm gan B theo đơn vị hành chính

Đặc điểm		Hà Nội (n/%)	Các tỉnh khác (n/%)	p
Thời gian phát hiện nhiễm HBV đến khi khám bệnh	6 - <12 tháng	45 (36,6)	43 (54,4)	0,03 ⁽²⁾
	1 - <5 năm	41 (33,3)	21 (26,6)	
	5 - <10 năm	27 (22,0)	7 (8,9)	
	≥ 10 năm	10 (8,1)	8 (10,1)	
	Tổng	123 (100)	79 (100)	
Tuổi phát hiện nhiễm HBV đầu tiên	6 - <16 tuổi	2 (1,6)	1 (1,3)	0,66 ⁽¹⁾
	≥16 tuổi	121 (98,4)	78 (98,7)	
	Tổng	123 (100)	79 (100)	

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Fisher's exact và ⁽²⁾Khi bình phương)

Phân tích thời gian phát hiện nhiễm HBV đến khi khám bệnh ở những BN hiện tại sống ở Hà Nội và các tỉnh khác nhận thấy thời gian phát hiện nhiễm HBV từ 6 - <12 tháng ở BN sống ở các tỉnh khác là 54,4% cao hơn BN sống tại Hà Nội là 36,6% (p=0,03). Tuổi phát hiện nhiễm HBV đầu tiên không có sự khác biệt giữa BN sống tại Hà Nội và các tỉnh khác (p=0,66).

Bảng 3.8: Thời gian phát hiện nhiễm vi rút viêm gan B theo nhóm tuổi

Đặc điểm		<40 tuổi (n/%)	≥40 tuổi (n/%)	p
Thời gian phát hiện nhiễm HBV đến khi khám bệnh	6 - <12 tháng	45 (42,4)	43 (44,8)	0,26 ⁽²⁾
	1 - <5 năm	37 (34,9)	25 (26,0)	
	5 - <10 năm	18 (17,0)	16 (16,7)	
	≥ 10 năm	6 (5,7)	12 (12,5)	
	Tổng	106 (100)	96 (100)	
Tuổi phát hiện nhiễm HBV đầu tiên	6 - <16 tuổi	3 (2,8)	0	0,1 ⁽¹⁾
	≥16 tuổi	103 (97,2)	96 (100)	
	Tổng	106 (100)	96 (100)	

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Fisher's exact và ⁽²⁾Khi bình phương)

Thời gian phát hiện nhiễm HBV đến khi khám bệnh và tuổi phát hiện nhiễm HBV đầu tiên không có sự khác biệt giữa BN <40 tuổi và ≥40 tuổi (p>0,05).

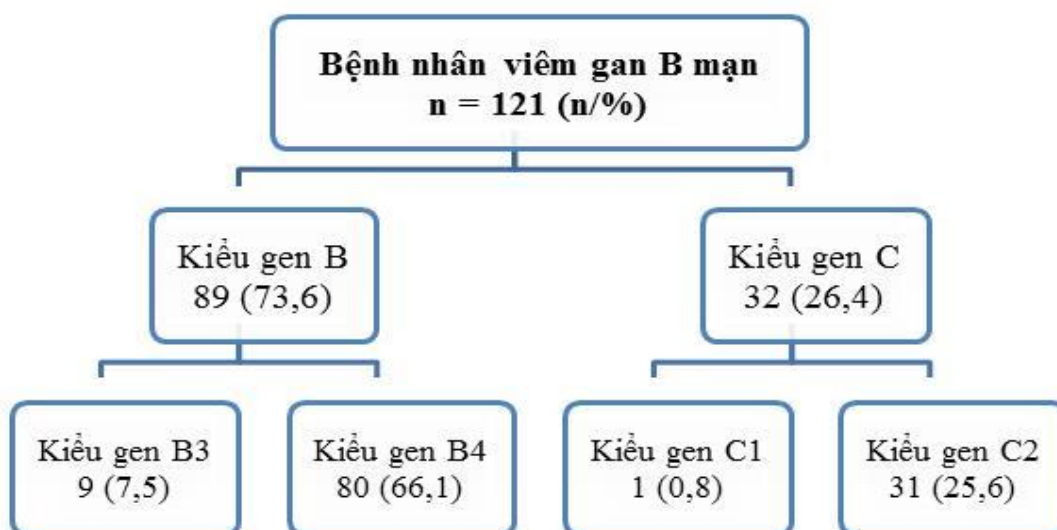
Bảng 3.9: Tiền sử nhiễm vi rút viêm gan B và HCC trong gia đình

Đặc điểm		n	Tỷ lệ %
Tiền sử nhiễm HBV	Vợ/chồng (n=124)	15	12,1
	Bố (n=75)	13	17,3
	Mẹ (n=81)	25	30,9
	Anh/chị em ruột (n=127)	68	53,5
	Con (n=106)	33	31,1
Tiền sử HCC	Vợ/chồng (n=153)	0	0
	Bố (n=183)	4	2,2
	Mẹ (n=183)	5	2,7
	Anh/chị em (n=184)	9	4,9
	Con (n=146)	0	0

Trong số các thành viên của gia đình đã kiểm tra nhiễm HBV nhận thấy tỷ lệ bố và mẹ bị nhiễm HBV tương ứng là 17,3% và 30,9%; anh/chị em ruột là 53,5%. Tỷ lệ BN có vợ/chồng nhiễm HBV là 12,1% và con nhiễm HBV là 31,1%. Trong những người trong gia đình của BN viêm gan vi rút B mạn đã khám để xác định HCC, tỷ lệ HCC ở bố/mẹ hay anh chị em ruột đều <5%.

3.1.2. Đặc điểm sinh học phân tử

3.1.2.1. Xét nghiệm kiểu gen của vi rút viêm gan B

**Hình 3.1: Xét nghiệm kiểu gen của vi rút viêm gan B (n=121)**

Trong 202 BN nghiên cứu, chúng tôi tiến hành giải trình tự gen P của HBV để xác định kiểu gen trên 121 BN hoàn thành 12 tháng điều trị thuốc kháng vi rút. Kết quả xác định 2 kiểu gen HBV là kiểu gen B và C, với 73,6% kiểu gen B và 26,4% kiểu gen C. Trong 73,6% kiểu gen B, kiểu gen B3 là 7,5% và B4 là 66,1%. Trong 26,4% kiểu gen C, kiểu gen C1 chỉ chiếm 0,8% và kiểu gen C2 là 25,6%.

3.1.2.2. Xét nghiệm tải lượng HBV-ADN

Bảng 3.10: Tải lượng HBV-ADN

HBV-ADN (IU/ml)	3 - <5 log ₁₀	5 - <8 log ₁₀	≥8 log ₁₀	Tổng	Mean ± SD (log ₁₀) (min - max)
n	39	130	33	202	6,4 ± 1,5
%	19,3	64,4	16,3	100	(3,1 - 8,9)

Kết quả tải lượng HBV-ADN trung bình của BN nghiên cứu là $6,4 \pm 1,5 \log_{10}$ IU/ml với giá trị cao nhất là $8,9 \log_{10}$ IU/ml.

Tỷ lệ BN có tải lượng HBV-ADN từ $5 \log_{10}$ IU/ml trở lên chiếm tới 80,7% trong đó có 6,3% BN tải lượng HBV-ADN $\geq 8 \log_{10}$ IU/ml.

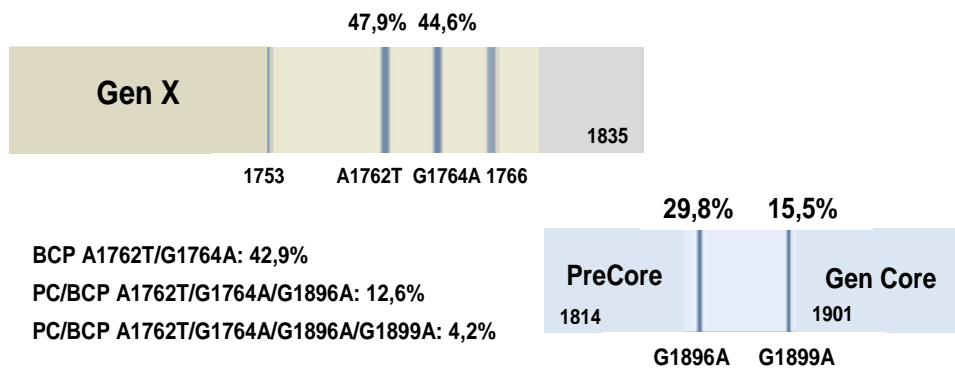
Bảng 3.11: Tải lượng HBV-ADN theo kiểu gen của vi rút viêm gan B

HBV-ADN (IU/ml)	Kiểu gen B (n=89)	Kiểu gen C (n=32)	p
3 - <5 log ₁₀ (n/%)	23 (25,8)	3 (9,4)	0,09 ⁽¹⁾
5 - <8 log ₁₀ (n/%)	51 (57,3)	25 (78,1)	
≥8 log ₁₀ (n/%)	15 (16,9)	4 (12,5)	
Tổng (n/%)	89 (100)	32 (100)	
Mean±SD (log ₁₀) (min-max)	6,3 ± 1,7 (3,1 - 8,9)	6,5 ± 1,3 (4,1 - 8,9)	0,9 ⁽²⁾

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Fisher's exact và ⁽²⁾Mann-Whitney)

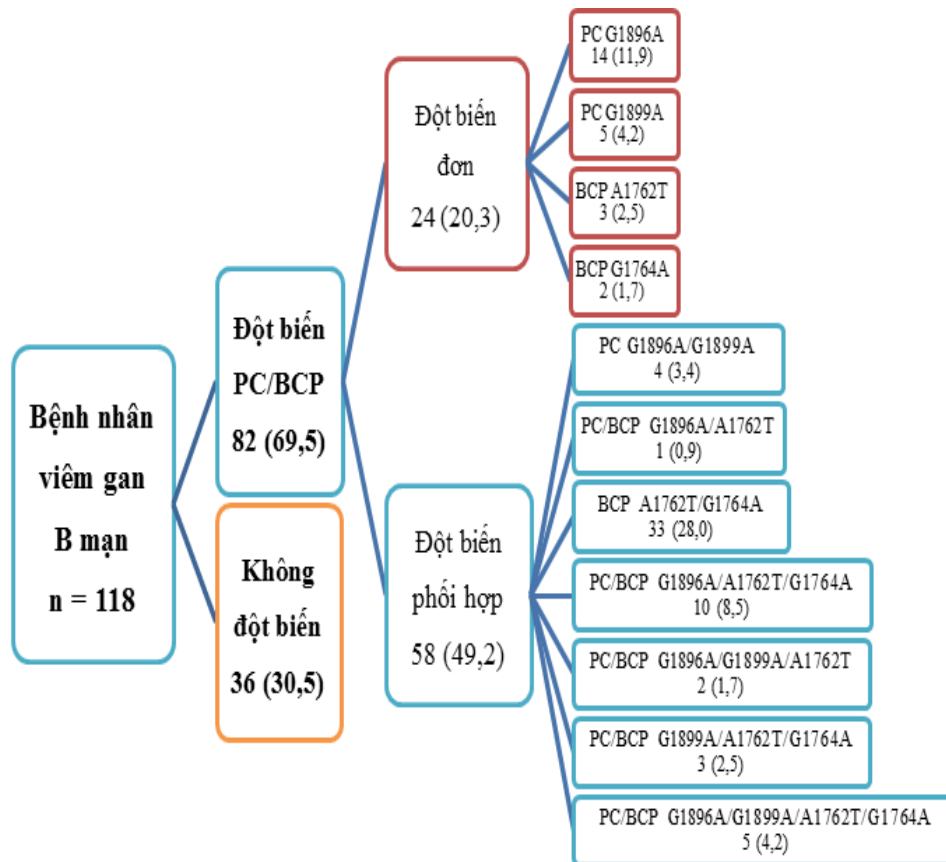
Phân tích tải lượng HBV-ADN theo 2 kiểu gen B và C nhận thấy tải lượng HBV-DNA trung bình của BN nhiễm kiểu gen B tương tự kiểu gen C ($6,3 \pm 1,7 \log_{10}$ IU/ml so với $6,5 \pm 1,3 \log_{10}$ IU/ml) (p=0,9). Sự phân bố tải lượng HBV-ADN cũng không có sự khác biệt giữa kiểu gen B và C (p=0,09).

3.1.2.3. Xét nghiệm đột biến PC/BCP



Hình 3.2: Đột biến PC/BCP (n=118)

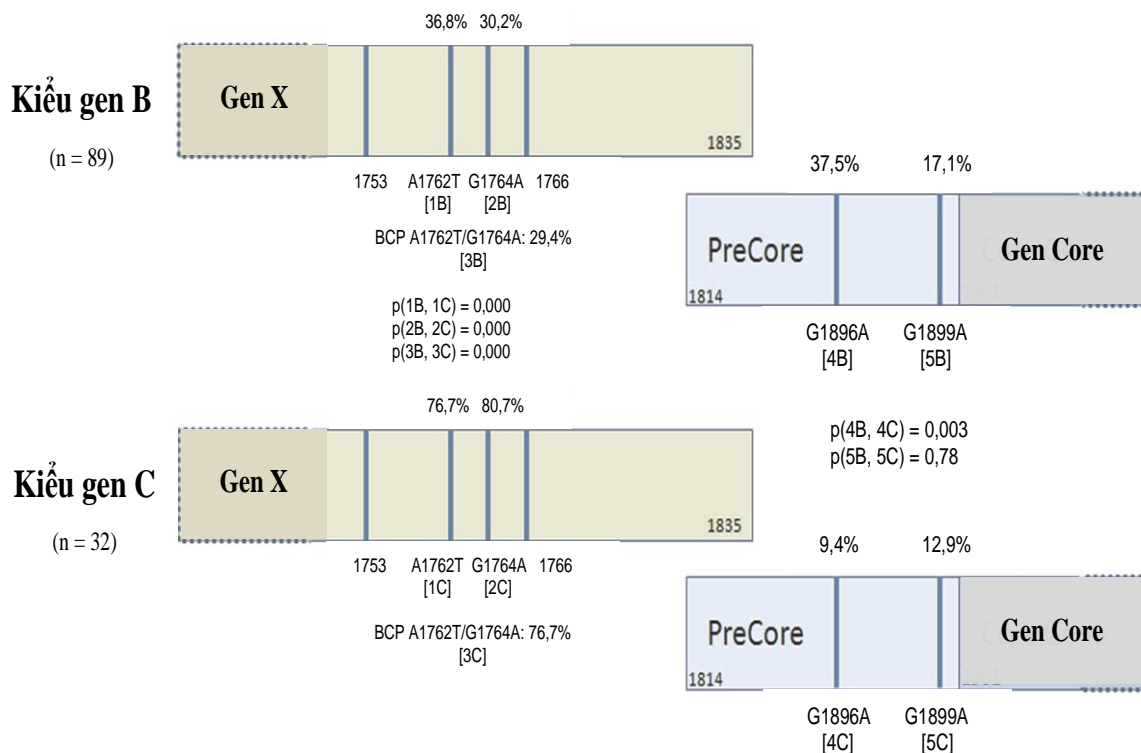
Trong 202 BN nghiên cứu, chúng tôi tiến hành giải trình tự gen đoạn PC/BCP của 121 BN hoàn thành 12 tháng điều trị thuốc kháng vi rút để xác định đột biến PC/BCP trong đó có 118 BN giải trình tự gen thành công và 3 BN không thành công. Phân tích kết quả trên 118 BN: Tỷ lệ đột biến PC G1896A là 29,8%; PC G1899A là 15,5%; BCP A1762T là 47,9% và BCP G1764A là 44,6%. Tỷ lệ đột biến kép BCP A1762T/G1764A là 42,9% và kết hợp 4 đột biến này là 4,2%.



Hình 3.3: Phân bố các đột biến PC/BCP (n=118)

Kết quả hình 3.3 nhận thấy có 30,5% BN không có đột biến (chủng tự nhiên) và 69,5% BN có từ 1 đột biến PC/BCP trở lên.

Khi phân tích sự phân bố đột biến PC/BCP trên những chủng HBV đột biến nhận thấy có 20,3% chủng chỉ 1 đột biến và tỷ lệ cao nhất là đột biến PC G1896A (11,9%). Trong khi đó 49,2% chủng HBV xuất hiện từ 2 loại đột biến trở lên với đột biến kép BCP A1762T/G1764A là 28%; phối hợp 3 đột biến PC/BCP G1896A/A1762T/G1764A là 8,5% và phối hợp 4 đột biến PC/BCP là 4,2%.



Hình 3.4: Đột biến PC/BCP theo kiểu gen của vi rút viêm gan B (n=118)

(Áp dụng thuật toán thống kê: Khi bình phương và Fisher's exact)

Kết quả trên cho thấy tỷ lệ đột biến PC/BCP ở 2 kiểu gen B và C có khác nhau: Tỷ lệ đột biến PC G1896A ở BN nhiễm kiểu gen B cao hơn kiểu gen C (37,5% so với 9,4%) với $p=0,003$ và đột biến PC G1899A ở kiểu gen B cao hơn kiểu gen C (37,5% so với 12,9%) với $p=0,78$.

Tỷ lệ đột biến BCP A1762T và G1764A ở kiểu gen C (76,7% và 80,7%) cao hơn kiểu gen B (36,8% và 30,2%) ($p<0,001$). Tỷ lệ đột biến kép A1762T/G1764A ở BN nhiễm kiểu gen C (76,7%) cao hơn kiểu gen B (29,4%) ($p<0,001$).

3.1.2.4. Xét nghiệm đột biến kháng thuốc tự nhiên

Bảng 3.12: Đột biến kháng thuốc của các chủng vi rút viêm gan B tự nhiên

Đột biến	Có		Không	
	n	%	n	%
M204I/V	0	0	121	100
I169T	0	0	121	100
V173L	0	0	121	100
L180M	0	0	121	100
A181T/V	0	0	121	100
T184G	0	0	121	100
S202I/G	0	0	121	100
N236T	0	0	121	100
M250V	0	0	121	100

Trong 202 BN có 121 BN giải trình tự gen P của HBV để xác định các đột biến kháng thuốc tự nhiên trước điều trị, kết quả không phát hiện đột biến kháng thuốc như đột biến M204I/V, I169T, V173L, L180M, A181T/V, T184G, S202I/G, N236T, M250V

3.1.3. Mối liên quan giữa kiểu gen, HBV-ADN, đột biến PC/BCP của vi rút viêm gan B, tuổi và giới tính

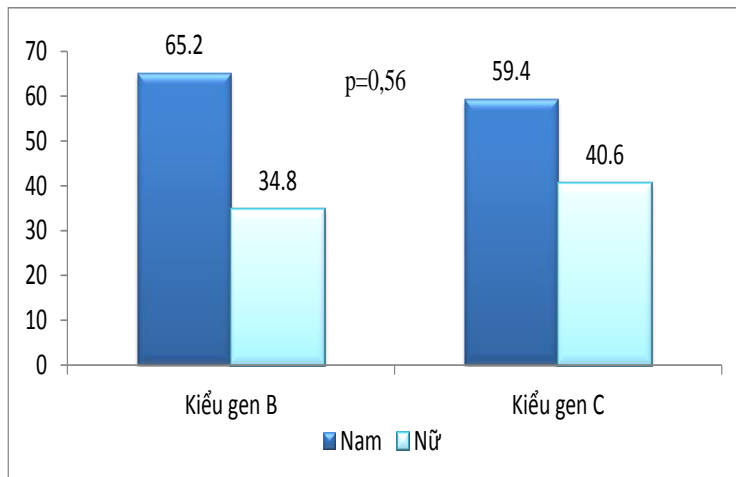
3.1.3.1. Kiểu gen của vi rút viêm gan B theo tuổi và giới tính

Bảng 3.13: Phân bố kiểu gen vi rút viêm gan B theo nhóm tuổi

Kiểu gen HBV	Tuổi (năm)					Mean±SD (min-max)
	<30	30 -<40	40 -<50	50 -<60	≥60	
B (n/%) (n=89)	28 (31,5)	20 (22,5)	23 (25,8)	12 (13,5)	6 (6,7)	38,3 ± 13 (17 - 75)
C (n/%) (n=32)	3 (9,4)	10 (31,3)	8 (25,0)	7 (21,8)	4 (12,5)	44,4 ± 12,5 (25 - 72)
p	0,09 ⁽¹⁾					0,02 ⁽²⁾

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Fisher's exact và ⁽²⁾Mann - Whitney)

Tỷ lệ BN nhiễm kiểu gen B và C không có sự khác biệt giữa các nhóm tuổi (p=0,09) tuy nhiên tuổi trung bình của BN nhiễm kiểu gen C cao hơn so với kiểu gen B (p=0,02).

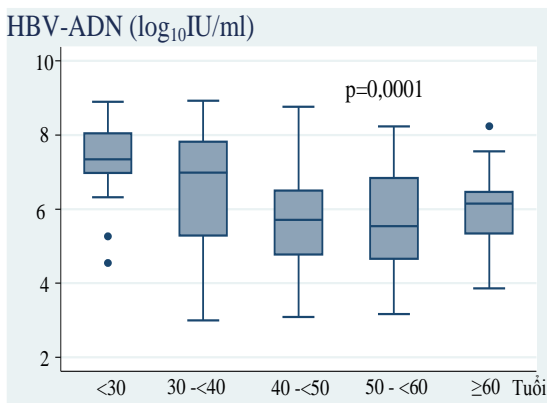


Biểu đồ 3.3: Phân bố kiểu gen của vi rút viêm gan B theo giới tính (n=121)

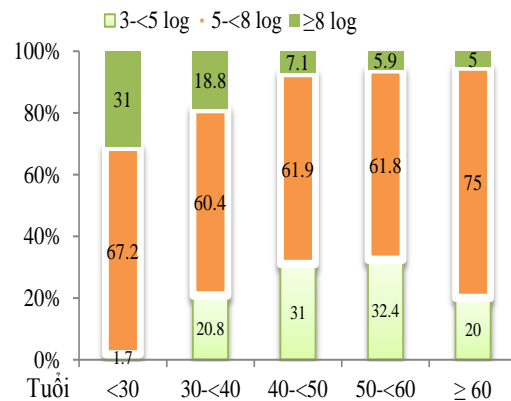
(Áp dụng thuật toán thống kê: Khi bình phương)

Tỷ lệ nam giới ở cả 2 kiểu gen B và C chiếm đa số (>50%) và phân bố giới tính không có sự khác biệt giữa kiểu gen B và C (p=0,56).

3.1.3.2. Tải lượng HBV-DNA theo nhóm tuổi và giới tính



Tải lượng HBV-ADN trung bình



Phân mức độ HBV-ADN

Biểu đồ 3.4: Tải lượng HBV-ADN theo nhóm tuổi (n=202)

(Áp dụng thuật toán thống kê: Kruskal Wallis)

Kết quả tải lượng HBV-ADN trung bình giảm khi tuổi của BN tăng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p=0,0001). Tỷ lệ BN có tải lượng HBV-ADN ≥ 8 log₁₀ IU/ml cao nhất ở nhóm BN <30 tuổi là 31% sau đó giảm dần cùng với tăng của tuổi và đến nhóm BN ≥ 60 tuổi chỉ có 5%, ngược lại tỷ lệ BN có tải lượng HBV-ADN từ 3-5 log₁₀ IU/ml thấp nhất ở nhóm <30 tuổi (1,7%).

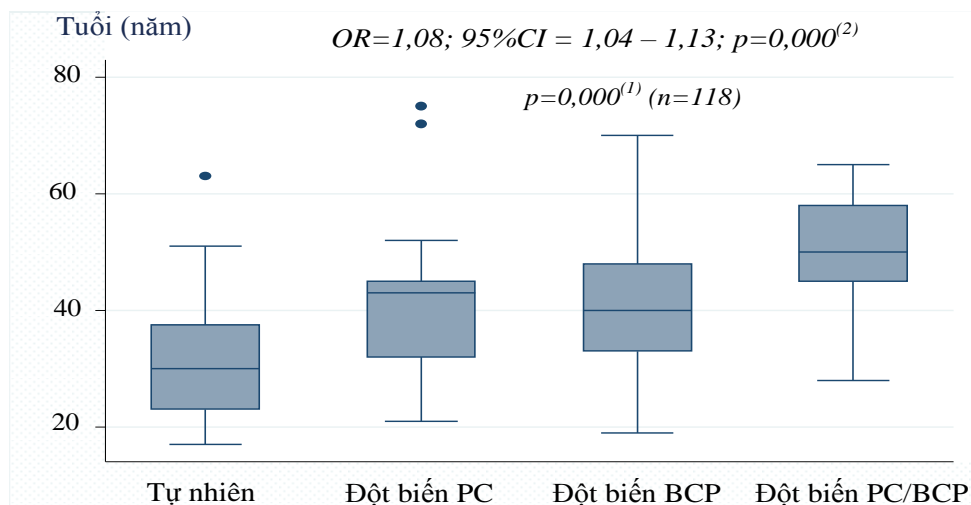
Bảng 3.14: Tải lượng HBV-ADN theo giới tính

HBV-ADN (IU/ml)	Nam giới	Nữ giới	p
3 - <5 log ₁₀ (n/%)	27 (20,9)	12 (16,4)	0,42 ⁽¹⁾
5 - <8 log ₁₀ (n/%)	84 (65,1)	46 (63,0)	
≥8 log ₁₀ (n/%)	18 (14,0)	15 (20,6)	
Tổng (n/%)	129 (100)	73 (100)	
Mean±SD (log ₁₀) (min-max)	6,4 ± 1,5 (3 - 8,9)	6,5 ± 1,4 (3,1 - 8,9)	0,4 ⁽²⁾

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Khi bình phương và ⁽²⁾Mann-Whitney)

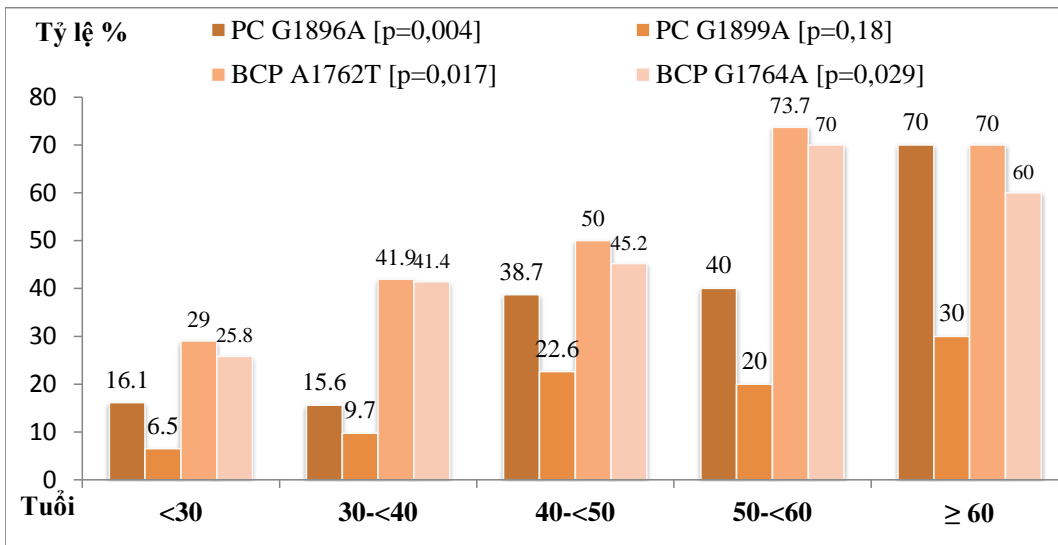
Phân tích tải lượng HBV-ADN theo giới tính nhận thấy tải lượng HBV-ADN trung bình của BN nam giới tương tự BN nữ giới ($6,4 \pm 1,5 \log_{10}$ IU/ml so với $6,5 \pm 1,4 \log_{10}$ IU/ml) với $p=0,4$. Sự phân bố tải lượng HBV-ADN cũng không có sự khác biệt giữa BN nam giới và nữ giới ($p=0,42$).

3.1.3.3. Liên quan giữa đột biến PC/BCP với tuổi và giới tính

**Biểu đồ 3.5: Liên quan đột biến PC/BCP với tuổi trung bình (n=118)**

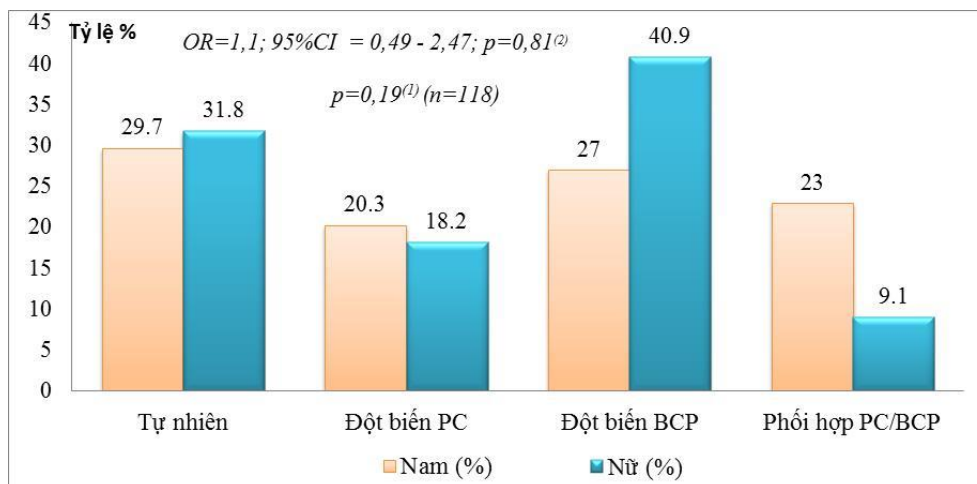
(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Kruskal Wallis và ⁽²⁾ hồi quy logistic)

Tuổi trung bình của BN nhiễm chủng HBV tự nhiên (không có đột biến PC/BCP) thấp nhất là $32,3 \pm 11,1$ (tuổi), tiếp đến là BN có đột biến BCP (gồm đột biến BCP A1762T và/hoặc G1764A), đột biến PC (gồm đột biến PC G1896A và/hoặc G1899A) và cao nhất là chủng có kết hợp các đột biến PC/BCP (đột biến PC kết hợp BCP) là $50,2 \pm 11,1$ (tuổi) ($p=0,000$). Phân tích hồi quy logistic đơn biến có mối liên quan giữa đột biến PC/BCP với tuổi trung bình của BN ($p=0,000$).



Biểu đồ 3.6: Phân bố đột biến PC/BCP theo nhóm tuổi
(Áp dụng thuật toán thống kê: Fisher's exact và Khi bình phương)

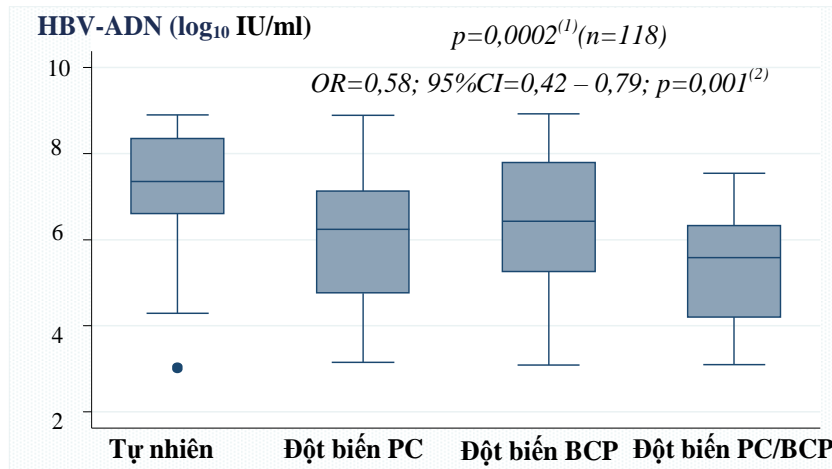
Phân tích thay đổi các đột biến tại 4 vị trí 1762, 1764, 1896 và 1899 của đoạn gen PC/BCP theo các nhóm tuổi, tỷ lệ đột biến PC G1896A, G1899A, BCP A1762T và G1674A thấp nhất ở nhóm <30 tuổi, tăng dần theo tăng của tuổi BN, tỷ lệ cao nhất ở nhóm ≥60 tuổi với các đột biến PC G1896A, G1899A và ở nhóm 50-60 tuổi với đột biến BCP A1762T và G1764A.



Biểu đồ 3.7: Liên quan giữa đột biến PC/BCP với giới tính (n=118)
(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Fisher's exact và ⁽²⁾hồi quy logistic)

Tỷ lệ đột biến PC ở nam giới là 20,3% và nữ giới là 18,2%; nhưng tỷ lệ đột biến BCP ở nam giới chỉ chiếm 27% nhưng nữ giới chiếm tới 40,9% (p=0,19). Kết quả phân tích hồi quy logistic đơn biến không có mối liên quan đột biến PC/BCP với nam giới (OR=1,1; 95%CI=0,49 - 2,47 và p=0,81).

3.1.3.4. Mối liên quan giữa đột biến PC/BCP với tải lượng HBV-ADN



Biểu đồ 3.8: Liên quan giữa đột biến PC/BCP với tải lượng HBV-ADN (n=118)

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Kruskal Wallis và ⁽²⁾hồi quy logistic)

Tải lượng HBV-ADN trung bình ở BN nhiễm HBV chủng tự nhiên cao nhất $7,2 \pm 1,5 \log_{10}IU/ml$ và thấp nhất là BN có phối hợp đột biến PC/BCP ($5,4 \pm 1,4 \log_{10}IU/ml$) ($p=0,0002$). Kết quả phân tích hồi quy logistic tải lượng HBV-ADN có mối liên quan đến đột biến PC/BCP ($OR=0,58; 95\%CI=0,42 - 0,79$ và $p=0,001$).

Bảng 3.15: Liên quan giữa đột biến PC/BCP, HBV-ADN theo HBeAg

Đột biến	HBeAg dương tính		HBeAg âm tính	
	HBV-ADN (Mean \pm SD) ($\log_{10}IU/ml$) (min-max)	p	HBV-ADN (Mean \pm SD) ($\log_{10}IU/ml$) (min-max)	p
Chủng tự nhiên	$7,6 \pm 1,1$ (n=28) (4,3 - 8,9)	0,09 ⁽¹⁾	$5,5 \pm 1,8$ (n=8) (3 - 7,4)	0,97 ⁽¹⁾
Đột biến PC	$6,9 \pm 1,7$ (n=9) (4,8 - 8,9)		$5,4 \pm 1,4$ (n=14) (3,2 - 7,8)	
Đột biến BCP	$7,0 \pm 1,2$ (n=22) (4,7 - 8,9)		$5,5 \pm 1,3$ (n=16) (3,1 - 7,9)	
Phối hợp đột biến PC/BCP	6,3 (n=1)		$5,3 \pm 1,4$ (n=20) (3,1 - 7,5)	
Phân tích hồi quy logistic đơn biến	$OR=0,57$ $95\%CI:0,35 - 0,95; p=0,03^{(2)}$		$OR=0,94$ $95\%CI: 0,55 - 1,61; p=0,82^{(2)}$	

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Kruskal Wallis và ⁽²⁾hồi quy logistic)

Tải lượng HBV-ADN trung bình của BN HBeAg dương tính nhiễm chủng HBV tự nhiên cao nhất là $7,6 \pm 1,1 \log_{10}IU/ml$ và thấp nhất là chủng phối hợp đột biến PC/BCP ($p=0,09$). Ở BN HBeAg âm tính kết quả cũng tương tự với $p=0,97$. Phân tích hồi quy logistic đơn biến ở BN HBeAg dương tính, HBV-ADN có mối liên quan đến đột biến PC/BCP ($OR=0,57$; $95\%CI=0,35 - 0,95$ và $p=0,03$) nhưng BN HBeAg âm tính, tải lượng HBV-ADN không có liên quan với đột biến PC/BCP ($OR=0,94$; $95\% CI=0,55 - 1,61$ và $p=0,82$).

3.2. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng

3.2.1. Đặc điểm lâm sàng

Bảng 3.16: Triệu chứng lâm sàng

Triệu chứng	Bệnh nhân <40 tuổi (n=106) (n/%) [1]	Bệnh nhân ≥40 tuổi (n=96) (n/%) [2]	Tổng (n=202) (n/%)	p[1,2]
Mệt mỏi	44 (41,5)	55 (57,3)	99 (49,0)	0,03 ⁽¹⁾
Chán ăn	29 (27,4)	44 (45,8)	73 (36,1)	0,006 ⁽¹⁾
Đầy bụng	19 (17,9)	34 (35,4)	53 (26,2)	0,005 ⁽¹⁾
Mất ngủ	14 (13,2)	15 (15,6)	29 (14,4)	0,63 ⁽¹⁾
Đau tức hạ sườn phải	6 (5,7)	18 (18,8)	24 (11,9)	0,004 ⁽¹⁾
Nước tiểu vàng	27 (25,5)	45 (46,9)	72 (35,7)	0,002 ⁽¹⁾
Vàng da, mắt	4 (3,8)	17 (17,7)	21 (10,4)	0,001 ⁽¹⁾
Sao mạch	3 (2,8)	17 (17,7)	20 (9,9)	0,000 ⁽¹⁾
Xạm da	7 (6,6)	25 (26,0)	32 (15,8)	0,000 ⁽¹⁾
Gan to	0	4 (4,2)	4 (2,0)	0,03 ⁽²⁾
Tuần hoàn bàng hệ	0	4 (4,2)	4 (2,0)	0,03 ⁽²⁾
Cổ chướng	0	7 (7,3)	7 (3,5)	0,005 ⁽¹⁾
Lách to	0	4 (4,2)	4 (2,0)	0,03 ⁽²⁾

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Khi bình phương và ⁽²⁾Fisher's exact)

Triệu chứng lâm sàng của BN viêm gan vi rút B mạn khi thăm khám lần đầu chủ yếu là các triệu chứng cơ năng: mệt mỏi 49%, chán ăn 36,1%, đầy bụng 26,2%.

Các triệu chứng thực thể nổi bật là nước tiểu vàng sẫm 35,7%, xạm da 15,8%, vàng da, mắt 10,4%. BN có cổ chướng chỉ 3,5% và tuần hoàn bàng hệ 2%.

Phân tích đặc điểm lâm sàng của BN <40 tuổi và ≥ 40 tuổi nhận thấy các triệu chứng của BN ≥ 40 tuổi có tỷ lệ cao hơn ở BN <40 tuổi với $p < 0,05$ như mệt mỏi 57,3% với 41,5%; chán ăn 45,8% với 27,4%; vàng da vàng mắt 17,7% với 3,8%

Bảng 3.17: Triệu chứng lâm sàng theo kiểu gen của vi rút viêm gan B

TT	Triệu chứng	Kiểu gen B (n=89) (n/%)	Kiểu gen C (n=32) (n/%)	p
1	Mệt mỏi	45 (50,6)	15 (46,9)	0,72 ⁽¹⁾
2	Chán ăn	34 (38,2)	14 (43,8)	0,58 ⁽¹⁾
3	Đầy bụng	24 (27)	8 (25)	0,83 ⁽¹⁾
4	Mất ngủ	15 (16,9)	3 (9,4)	0,24 ⁽²⁾
5	Đau tức hạ sườn phải	9 (10,1)	1 (3,1)	
6	Nước tiểu vàng	29 (32,6)	11 (34,4)	0,51 ⁽¹⁾
7	Vàng da, mắt	12 (13,5)	1 (3,1)	
8	Sao mạch	7 (7,9)	4 (12,5)	0,32 ⁽²⁾
9	Xạm da	15 (16,9)	4 (12,5)	0,4 ⁽²⁾
10	Gan to	2 (2,3)	0	
11	Tuần hoàn bàng hệ	2 (2,3)	0	
12	Cổ chướng	4 (4,5)	1 (3,1)	
13	Lách to	2 (2,3)	0	

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Khi bình phương và ⁽²⁾Fisher's exact)

Khi so sánh đặc điểm lâm sàng theo kiểu gen của HBV trên 121 BN xác định được kiểu gen HBV nhận thấy các triệu chứng lâm sàng không có sự khác nhau giữa BN nhiễm kiểu gen B và C ($p > 0,05$).

3.2.2. Đặc điểm cận lâm sàng

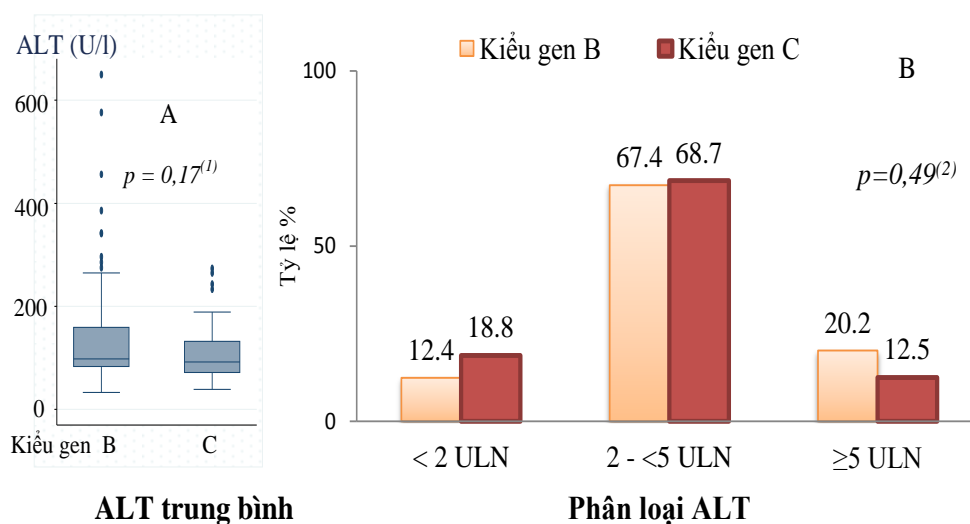
3.2.2.1. Cận lâm sàng theo kiểu gen của vi rút viêm gan B

Bảng 3.18: Xét nghiệm ALT và AST máu

Xét nghiệm		<2ULN	2 - <5 ULN	≥5 ULN	Tổng	Mean ± SD (U/L) (min - max)
ALT	n	34	122	46	202	150,7 ± 121,7
	%	16,8	60,4	22,8	100	(33 - 650)
AST	n	90	84	28	202	104,9 ± 96,8
	%	44,5	41,6	13,9	100	(17 - 812)

Các xét nghiệm đánh giá chức năng gan cho thấy trên 80% BN có ALT tăng từ 2 ULN. Đáng chú ý có tới 22,8% BN có biểu hiện bùng phát sinh hóa với ALT tăng trên 5 ULN. Kết quả ALT trung bình là $150,7 \pm 121,7$ U/L, cao nhất là 650 U/L, thấp nhất là 33 U/L.

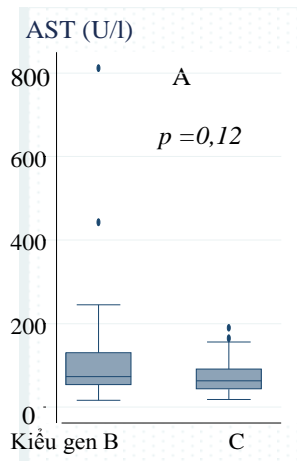
Kết quả AST trung bình là $104,9 \pm 96,8$ U/L, với $AST \leq 2$ ULN chiếm 44,5%, 2 - <5 ULN là 41,6% và 13,9% BN có $AST \geq 5$ ULN.



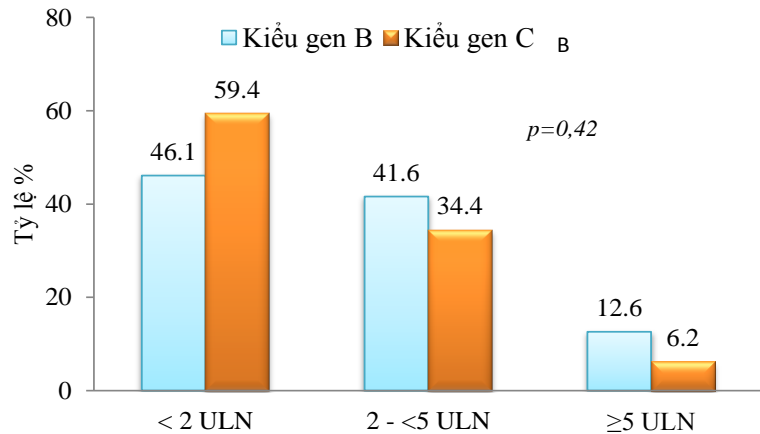
Biểu đồ 3.9: Xét nghiệm ALT theo kiểu gen của vi rút viêm gan B (n=121)

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Mann - Whitney và ⁽²⁾Fisher's exact)

Kết quả ALT trung bình của kiểu gen B là $141 \pm 108,5$ (U/L) cao hơn kiểu gen C là $111,3 \pm 63,9$ (U/L), sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p=0,173$). Tương tự không có sự khác biệt kết quả phân loại ALT giữa kiểu gen B và C ($p=0,72$).



AST trung bình



Phân loại AST

Biểu đồ 3.10: Xét nghiệm AST theo kiểu gen của vi rút viêm gan B (n=121)

(Áp dụng thuật toán thống kê: Mann - Whitney và Fisher's exact)

Kết quả AST trung bình của kiểu gen B là $104,1 \pm 101,4$ (U/L) cao hơn kiểu gen C là $75 \pm 44,1$ (U/L), sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p = 0,12$) và cũng không có sự khác biệt kết quả phân loại AST giữa kiểu gen B và C ($p = 0,42$).

Bảng 3.19: Xét nghiệm albumin và bilirubin toàn phần theo kiểu gen của vi rút viêm gan B

Xét nghiệm		Chung (n=202)	Kiểu gen của vi rút viêm gan B (n=121)		
			Kiểu gen B (n=89)	Kiểu gen C (n=32)	p
Albumin máu	<34 g/L (n%)	16 (8,4)	7 (8,1)	1 (3,2)	0,32 ⁽¹⁾
	≥34 g/L (n%)	174 (91,6)	79 (91,9)	30 (96,8)	
	Tổng (n%)	190 (100)	86 (100)	31 (100)	
	Mean ± SD (g/L) (min - max)	41,4 ± 5,3 (22,7-52,4)	41,2 ± 5,1 (24,3-52,4)	41,4 ± 4,5 (29,3-51,2)	0,17 ⁽²⁾
Bilirubin toàn phần	<17 mmol/L (n%)	144 (75,4)	59 (67,8)	26 (83,9)	0,09 ⁽³⁾
	≥17 mmol/L (n%)	47 (24,6)	28 (32,2)	5 (16,1)	
	Tổng (n%)	191 (100)	87 (100)	31 (100)	
	Mean ±SD (mmol/L) (min-max)	17,3 ± 19,7 (3,4-185,2)	17,3 ± 12,7 (4,6 - 72,8)	12 ± 5,4 (3,4-27,2)	0,03 ⁽²⁾

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Fisher's exact, ⁽²⁾Mann - Whitney và ⁽³⁾Khi bình phương)

Trong số 202 BN có 190 BN xét nghiệm albumin máu và 191 BN xét nghiệm bilirubin toàn phần. Kết quả albumin trung bình là $41,4 \pm 5,3$ g/L (thấp nhất 22,7 g/L) trong đó có 8,4% BN có albumin máu <34 g/L. Kết quả bilirubin toàn phần trung bình là $17,3 \pm 19,7$ mmol/L (cao nhất là 185,2 mmol/L) với 24,6% BN có bilirubin máu toàn phần ≥ 17 mmol/L.

Phân tích các đặc điểm theo kiểu gen của HBV nhận thấy trong 89 BN nhiễm kiểu gen B có 86 BN xét nghiệm albumin máu và 87 BN xét nghiệm bilirubin toàn phần. Trong 32 BN nhiễm kiểu gen C có 31 BN xét nghiệm albumin máu và bilirubin toàn phần. Kết quả nồng độ albumin máu không có khác biệt giữa kiểu gen B và C ($p > 0,05$). Kết quả bilirubin toàn phần của BN nhiễm kiểu gen B là $17,3 \pm 12,7$ (mmol/L) cao hơn kiểu gen C $12 \pm 5,4$ (mmol/L) ($p = 0,03$). Tuy nhiên phân loại bilirubin toàn phần không có sự khác biệt giữa BN nhiễm kiểu gen B và C ($p > 0,05$).

Bảng 3.20: Xét nghiệm α FP máu theo kiểu gen của vi rút viêm gan B

Xét nghiệm α FP	Chung (n=202)	Kiểu gen của vi rút viêm gan B (n=121)		
		Kiểu gen B (n=89)	Kiểu gen C (n=32)	p
<5 ng/ml (n%)	127 (65,1)	54 (63,5)	19 (61,2)	0,11 ⁽¹⁾
7 - <35 ng/ml (n%)	41 (21,0)	15 (17,7)	10 (32,3)	
≥ 35 ng/ml (n%)	27 (13,9)	16 (18,8)	2 (6,5)	
Tổng (n%)	195 (100)	85 (100)	31 (100)	
Mean \pm SD (ng/ml) (min - max)	26,0 \pm 72,7 (0,61-625,4)	29,8 \pm 65,4 (0,6 - 379,2)	11,5 \pm 18,1 (0,6-96,3)	0,17 ⁽²⁾

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Fisher's exact, ⁽²⁾Mann - Whitney và ⁽³⁾Khi bình phương)

Trong số 202 BN có 195 BN xét nghiệm α FP, kết quả có 65,1% BN có α FP <7 ng/ml, 13,9% BN có α FP ≥ 35 ng/ml và α FP trung bình là $26,0 \pm 106,4$ ng/ml (cao nhất là 625,4 ng/ml). Phân tích nồng độ α FP máu theo kiểu gen của HBV nhận thấy trong 89 BN nhiễm kiểu gen B có 85 BN xét nghiệm α FP. Trong 32 BN nhiễm kiểu gen C có 31 BN xét nghiệm α FP. Kết quả nồng độ α FP máu không có khác biệt giữa kiểu gen B và C ($p > 0,05$).

Bảng 3.21: Xét nghiệm tỷ lệ prothrombin, fibrinogen và tiểu cầu máu theo kiểu gen của vi rút viêm gan B

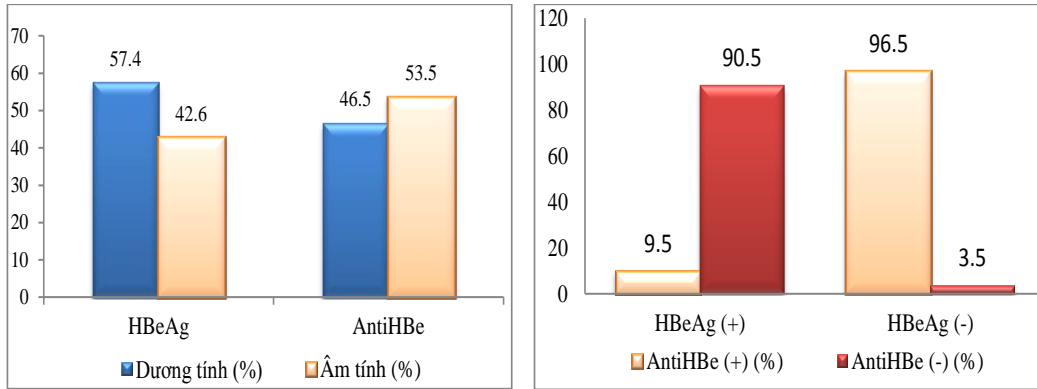
Xét nghiệm	Chung (n=202)	Kiểu gen của vi rút viêm gan B (n=121)			
		Kiểu gen B (n=89)	Kiểu gen C (n=32)	p	
Tỷ lệ prothrombin	< 60% (n/%)	17 (8,5)	8 (9,0)	3 (9,4)	0,6 ⁽¹⁾
	≥ 60% (n/%)	183 (91,5)	81 (91,0)	29 (90,6)	
	Tổng (n/%)	200 (100)	89 (100)	32 (100)	
	Mean ± SD (%) (min - max)	81,3 ± 16 (39,6-33,4)	81,1 ± 16,4 (44-133,4)	78,7 ± 15,1 (53,3-113)	0,57 ⁽⁴⁾
Fibrinogen máu	< 2 g/L (n/%)	45 (23,2)	17 (20,0)	4 (12,9)	0,3 ⁽¹⁾
	≥ 2 g/L (n/%)	149 (76,8)	68 (80,0)	27 (87,1)	
	Tổng (n/%)	194 (100)	85 (100)	31 (100)	
	Mean ± SD (g/L) (min - max)	2,68 ± 0,84 (0,92-5,8)	2,69 ± 0,77 (1,34-4,76)	3,0 ± 0,91 (1,61-4,89)	0,1 ⁽³⁾
Tiểu cầu máu	<150x10 ⁹ /L (n/%)	65 (32,5)	30 (33,7)	16 (50)	0,1 ⁽²⁾
	≥150x10 ⁹ /L (n/%)	135 (67,5)	59 (66,3)	16 (50)	
	Tổng (n/%)	200 (100)	89 (100)	32 (100)	
	Mean±SD (10 ⁹ /L) (min - max)	176,3 ± 58,9 (38-339)	178,4 ± 59,4 (52-339)	154,3 ± 61,8 (51-291)	0,04 ⁽³⁾

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Fisher's exact, ⁽²⁾Khi bình phương, ⁽³⁾Mann - Whitney, ⁽⁴⁾T-test)

Trong 202 BN có 200 BN xét nghiệm tỷ lệ prothrombin, 194 BN xét nghiệm fibrinogen và 200 BN xét nghiệm tiểu cầu. Kết quả số lượng tiểu cầu trung bình là $176 \pm 58,9$ ($10^9/L$) với giá trị thấp nhất là $38 \times 10^9/L$ và cao nhất là $339 \times 10^9/L$. Khi phân loại số lượng tiểu cầu có 32,5% BN có số lượng tiểu cầu $<150 \times 10^9/L$. Tỷ lệ prothrombin trung bình $81,3 \pm 16$ (%) với 8,5% BN có tỷ lệ prothrombin $<60\%$, fibrinogen trung bình là $2,68 \pm 0,84$ (g/L) và có 23,2% BN có fibrinogen $<2g/L$.

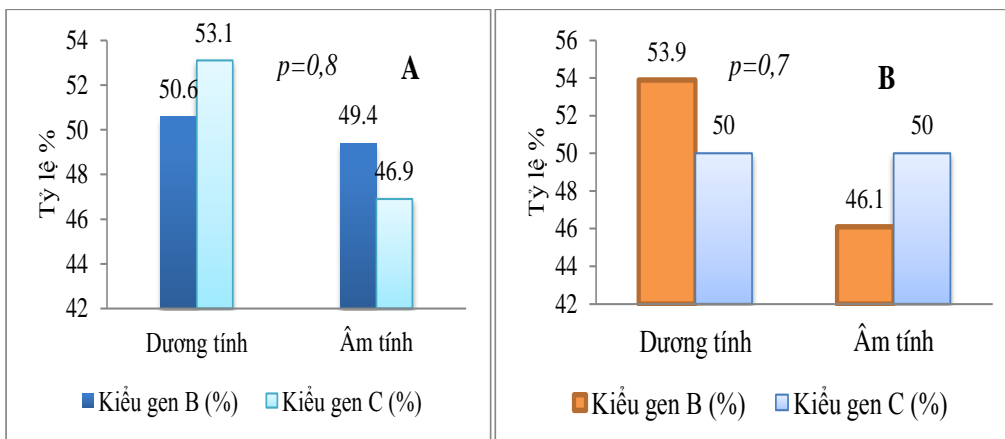
Phân tích theo kiểu gen của HBV nhận thấy trong 89 BN nhiễm kiểu gen B và 32 BN nhiễm kiểu gen C có 85 BN nhiễm kiểu gen B và 31 BN nhiễm kiểu gen C xét nghiệm fibrinogen máu. Tỷ lệ prothrombin và fibrinogen không có sự khác biệt giữa kiểu gen B và C ($p>0,05$). Số lượng tiểu cầu trung bình của BN nhiễm kiểu

gen B là $178,4 \pm 59,4$ ($10^9/L$) cao hơn kiểu gen C là $154,3 \pm 61,8$ ($10^9/L$) ($p=0,04$). Phân loại tiểu cầu theo các mức độ khác nhau cũng không có sự khác biệt giữa BN nhiễm kiểu gen B và C ($p=0,1$).



Biểu đồ 3.11: Xét nghiệm HBsAg và anti-HBs máu (n=202)

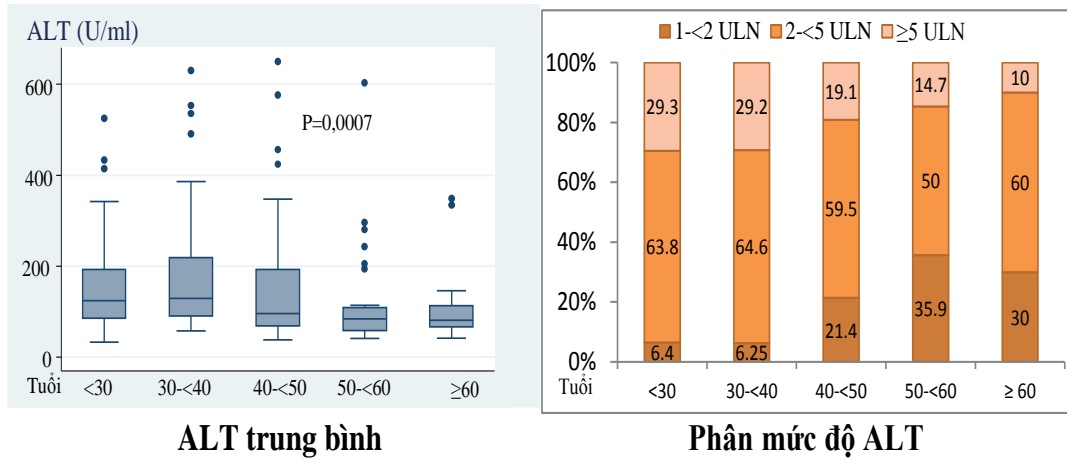
Tỷ lệ BN có HBsAg dương tính là 57,4% và anti-HBs dương tính là 46,5%. Phân tích kết quả anti-HBs theo tình trạng HBsAg nhận thấy trong 116 BN HBsAg dương tính có 9,5% anti-HBs dương tính và 90,5% anti-HBs âm tính. Trong khi đó ở 86 BN HBsAg âm tính tỷ lệ anti-HBs dương tính lên tới 96,5% và chỉ có 3,5% anti-HBs âm tính.



Biểu đồ 3.12: Tình trạng HBsAg [A] và anti-HBs [B] theo kiểu gen của vi rút viêm gan B (n=121) (Áp dụng thuật toán thống kê: Khi bình phương)

Tỷ lệ HBsAg dương tính ở BN nhiễm kiểu gen B là 50,6% và kiểu gen C là 53,1% ($p=0,8$). Tỷ lệ anti-HBs dương tính ở BN nhiễm kiểu gen B là 53,9% và kiểu gen C là 50% ($p=0,7$).

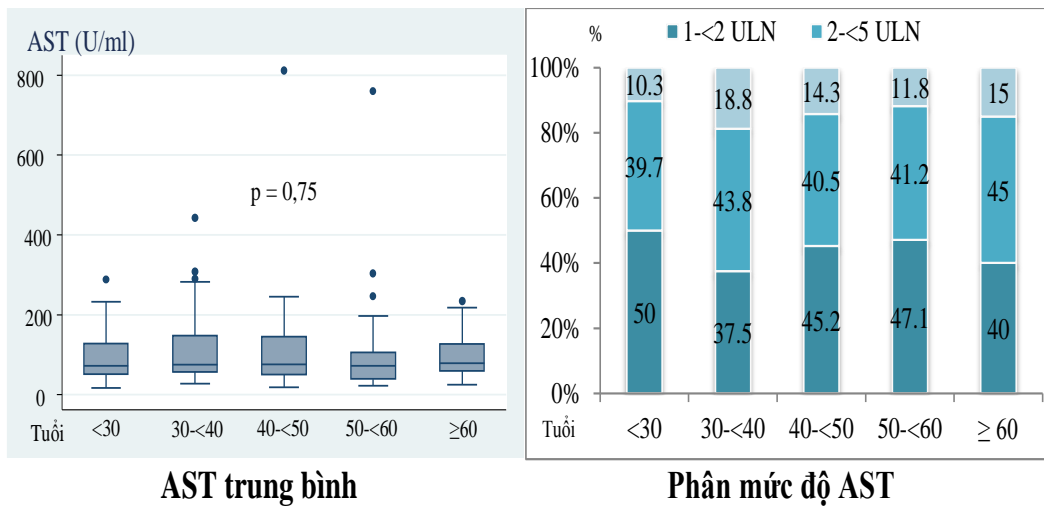
3.2.2.2. Cận lâm sàng theo nhóm tuổi



Biểu đồ 3.13: Phân bố ALT theo nhóm tuổi (n=202)

(Áp dụng thuật toán thống kê: Kruskal Wallis)

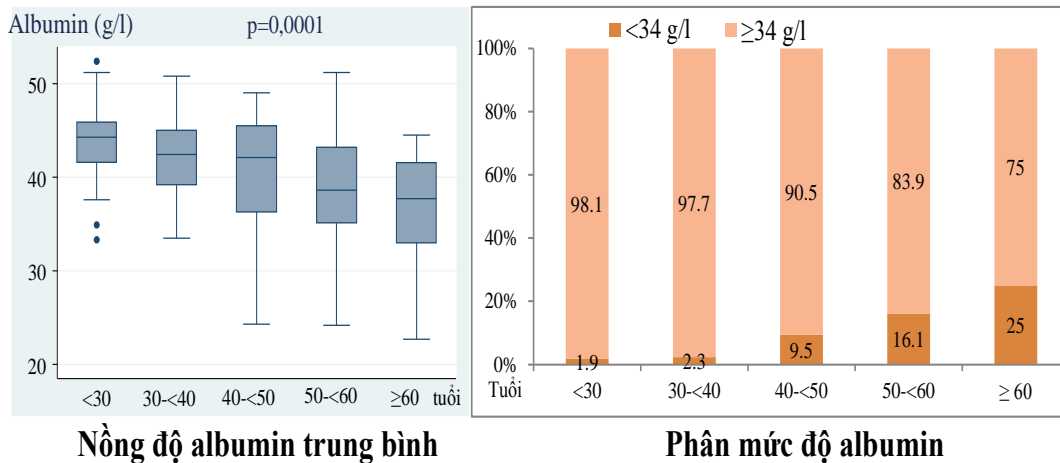
Kết quả ALT trung bình cao ở nhóm tuổi từ 30 -<40 tuổi ($175,9 \pm 134,2$ U/L) và thấp nhất BN ≥ 60 tuổi ($108,1 \pm 84,2$ U/L), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p=0,0007$). Phân mức độ ALT theo tuổi nhận thấy nồng độ ALT từ 2-<5 ULN chiếm đa số các trường hợp trong từng nhóm tuổi.



Biểu đồ 3.14: Phân bố AST theo nhóm tuổi (n=202)

(Áp dụng thuật toán thống kê: Kruskal Wallis)

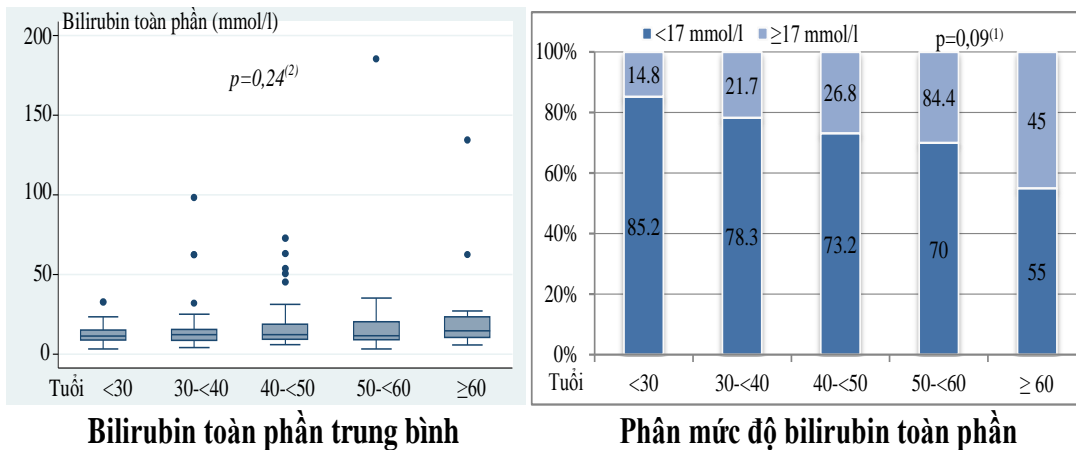
Kết quả AST trung bình không có sự khác biệt ở các nhóm tuổi khác nhau ($p=0,75$) và phân mức độ AST theo các nhóm tuổi cũng không có sự khác biệt.



Biểu đồ 3.15: Phân bố albumin máu theo nhóm tuổi (n=190)

(Áp dụng thuật toán thống kê: *Kruskal Wallis*)

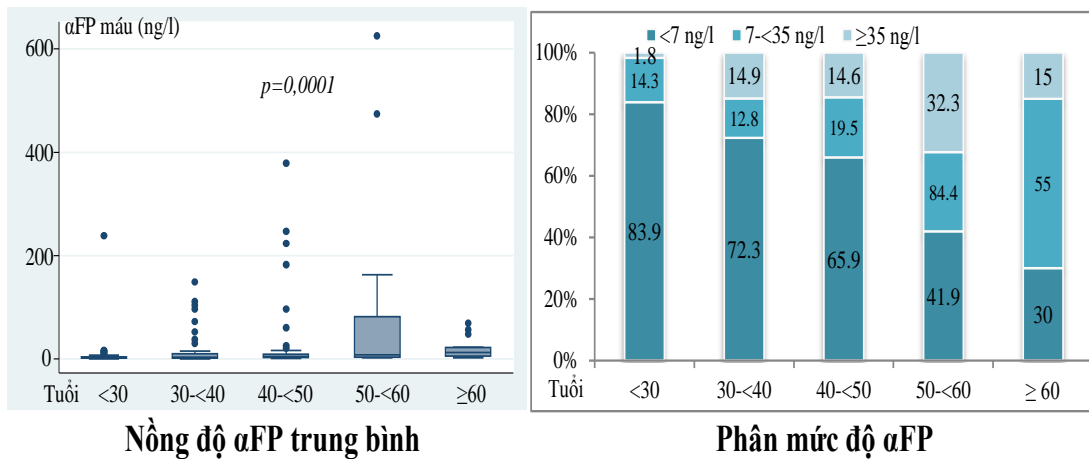
Trong 190 BN xét nghiệm albumin máu, kết quả nồng độ albumin trung bình giảm khi tuổi của BN tăng như albumin trung bình là $43,9 \pm 3,7$ g/L ở nhóm tuổi <30 tuổi nhưng khi ≥ 60 tuổi nồng độ albumin trung bình còn là $36,7 \pm 5,8$ g/L ($p=0,0001$). Tỷ lệ BN có nồng độ albumin máu <34 g/L tăng dần theo từng nhóm tuổi như ở nhóm tuổi <30 tuổi là 6,9% và khi ≥ 60 tuổi là 25%.



Biểu đồ 3.16: Phân bố bilirubin toàn phần theo nhóm tuổi (n=191)

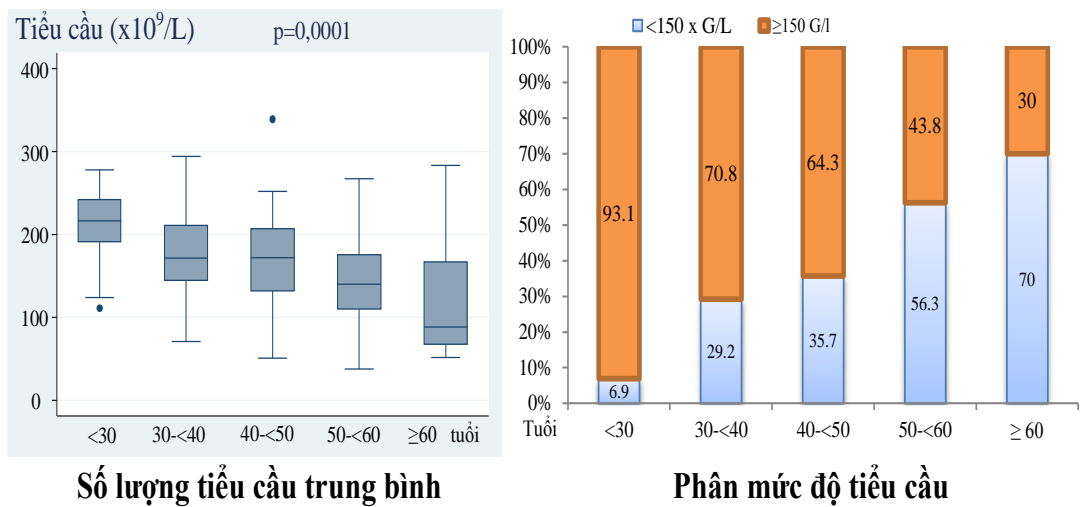
(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Fisher's exact và ⁽²⁾Kruskal Wallis)

Trong 191 BN xét nghiệm bilirubin toàn phần, bilirubin toàn phần trung bình tăng theo tuổi, nhóm BN <30 tuổi là $12,5 \pm 5,3$ mmol/L và đến nhóm BN ≥ 60 tuổi là $23,8 \pm 28,8$ mmol/L ($p=0,24$). Khi chia bilirubin toàn phần thành 2 mức độ <17 mmol/L và ≥ 17 mmol/L nhận thấy không có khác biệt về tỷ lệ của 2 mức độ bilirubin toàn phần ở các nhóm tuổi ($p=0,09$).



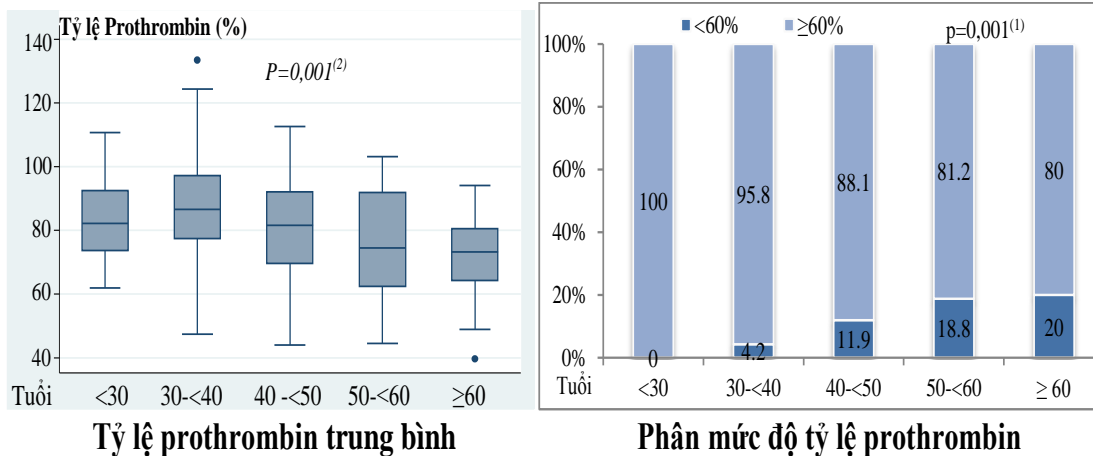
Biểu đồ 3.17: Phân bố alphaFP máu theo nhóm tuổi (n=195)
(Áp dụng thuật toán thống kê: Kruskal Wallis)

Kết quả nhận thấy nồng độ alphaFP trung bình cao nhất ở nhóm tuổi 50 -<60 tuổi và thấp nhất ở nhóm <30 tuổi, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p=0,0001). Tỷ lệ % BN có nồng độ alphaFP <7 ng/ml giảm dần khi tuổi của BN tăng như 83,9% ở nhóm <30 tuổi và chỉ 30% ở nhóm ≥60 tuổi.



Biểu đồ 3.18: Phân bố số lượng tiểu cầu máu theo nhóm tuổi (n=200)
(Áp dụng thuật toán thống kê: Kruskal Wallis), (G/L = 10⁹/L)

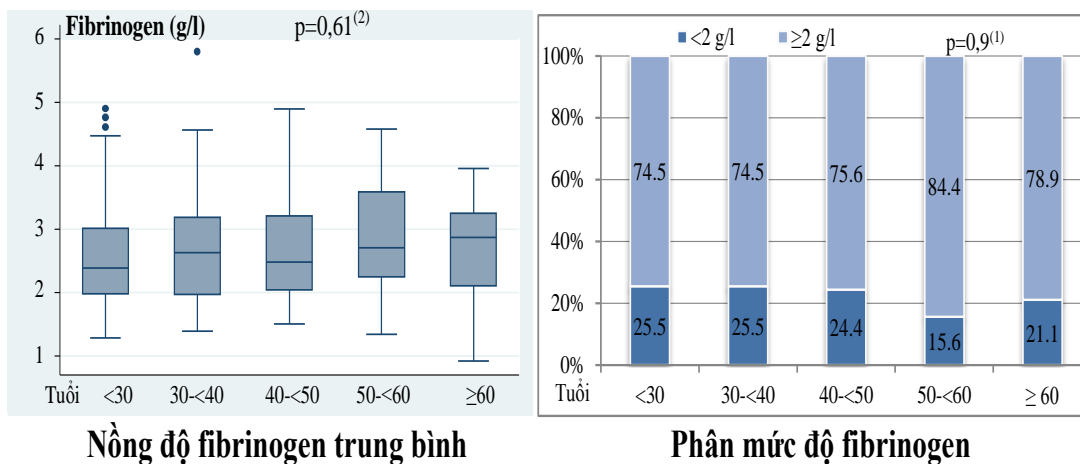
Trong 200 BN có xét nghiệm tiểu cầu, số lượng tiểu cầu trung bình ở nhóm tuổi <30 tuổi là 214,4 ± 39,4 (10⁹/L), sau đó giảm dần và khi BN ≥60 tuổi là 120,6 ± 66,7 (10⁹/L) (p=0,0001). Tỷ lệ BN có số lượng tiểu cầu <150 x 10⁹/L ở nhóm <30 tuổi là 6,9% và tỷ lệ tăng dần khi ≥60 tuổi là 70%.



Biểu đồ 3.19: Phân bố tỷ lệ prothrombin máu theo nhóm tuổi (n=200)

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Fisher's exact và ⁽²⁾Kruskal Wallis)

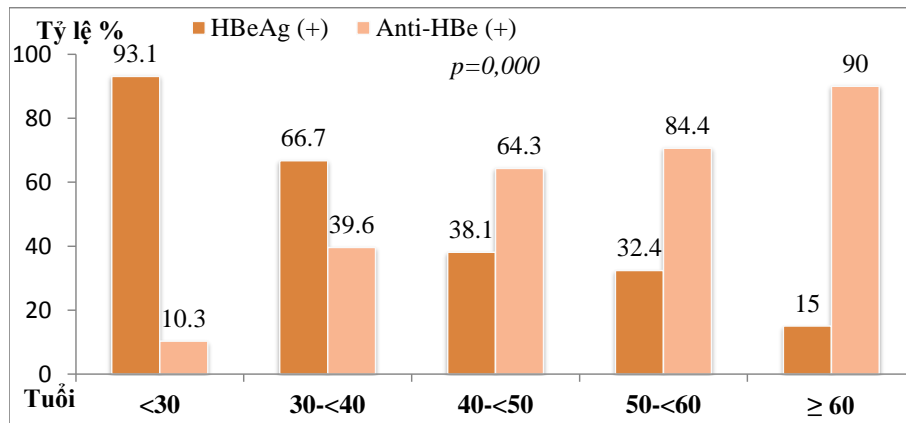
Kết quả biểu đồ 3.19 cho thấy tỷ lệ prothrombin trung bình giảm dần theo nhóm tuổi, nhóm tuổi <30 tuổi tỷ lệ prothrombin trung bình là $83,9 \pm 12$ (%) đến nhóm ≥60 tuổi là $71,2 \pm 14,8$ (%) ($p=0,0001$). Tỷ lệ BN có tỷ lệ prothrombin <60% tăng cùng với nhóm tuổi như 0% ở nhóm <30 tuổi tăng đến 20% ở nhóm ≥60 tuổi ($p=0,001$).



Biểu đồ 3.20: Phân bố fibrinogen theo nhóm tuổi (n=194)

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Fisher's exact và ⁽²⁾Kruskal Wallis)

Trong 202 BN nghiên cứu có 194 BN xét nghiệm fibrinogen. Kết quả nhận thấy nồng độ fibrinogen trung bình và phân bố nồng độ fibrinogen theo 2 mức độ (<2 g/L và ≥2 g/L) ở các nhóm tuổi không có sự khác biệt ($p>0,05$).

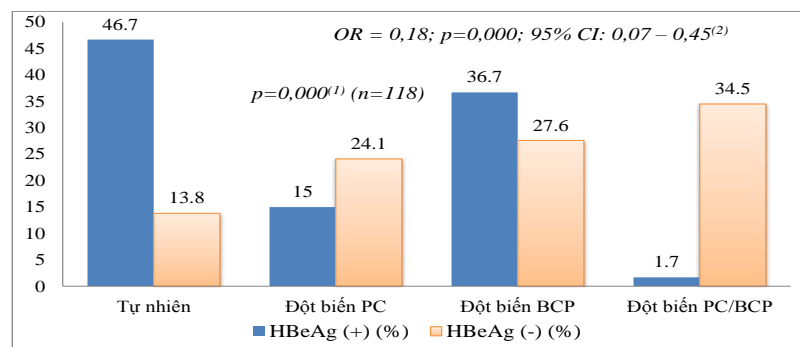


Biểu đồ 3.21: Phân bố HBeAg, anti-HBe theo nhóm tuổi

(Áp dụng thuật toán thống kê: Fisher's exact và Khi bình phương)

Phân tích thay đổi huyết thanh học theo nhóm tuổi cho thấy xu hướng biến đổi theo nhóm tuổi như tỷ lệ HBeAg dương tính giảm dần theo tuổi với 93,1% với nhóm BN <30 tuổi và nhóm BN ≥60 tuổi là 15%. Như vậy tỷ lệ HBeAg dương tính cao nhất ở nhóm <30 tuổi, giảm xuống thấp nhất ở nhóm ≥60 tuổi. Ngược lại với xu hướng này, tỷ lệ có anti-HBe dương tính thấp nhất ở nhóm <30 tuổi, tăng dần và đạt tỷ lệ cao nhất ở nhóm ≥60 tuổi.

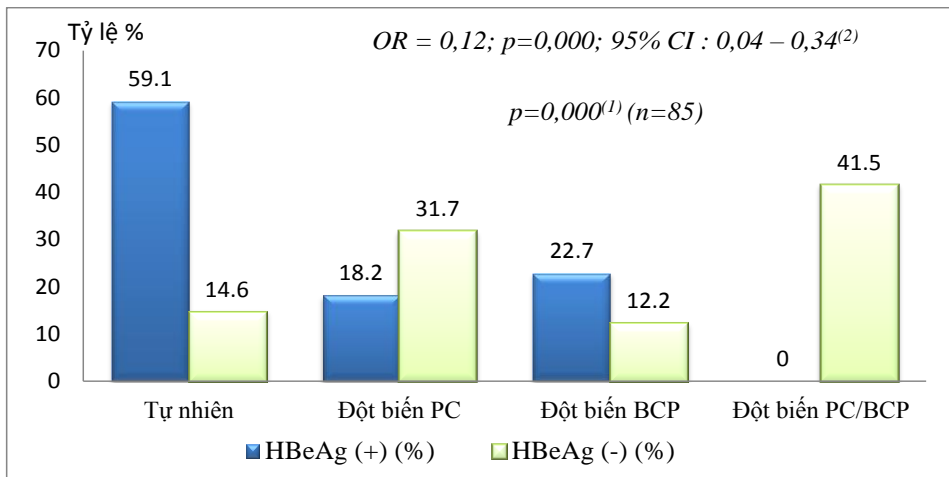
3.2.2.3. Liên quan giữa ALT và HBeAg với đột biến PC/BCP



Biểu đồ 3.22: Liên quan giữa HBeAg với đột biến PC/BCP (n=118)

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Fisher's exact và ⁽²⁾hồi quy logistic)

Bệnh nhân nhiễm chủng tự nhiên và đột biến BCP có tỷ lệ HBeAg dương tính cao hơn HBeAg âm tính (tương ứng 46,7% và 13,8% với chủng tự nhiên, 36,7% và 27,65 với chủng đột biến BCP) nhưng BN nhiễm chủng đột biến PC và phối hợp PC/BCP có tỷ lệ HBeAg âm tính cao hơn HBeAg dương tính ($p=0,000$). Tiến hành phân tích hồi quy logistic đơn biến có mối liên quan giữa đột biến PC/BCP với tình trạng HBeAg ($p=0,000$).



Biểu đồ 3.23: Liên quan giữa đột biến PC/BCP với HBeAg ở kiểu gen B (n=75)
(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Fisher's exact và ⁽²⁾hồi quy logistic)

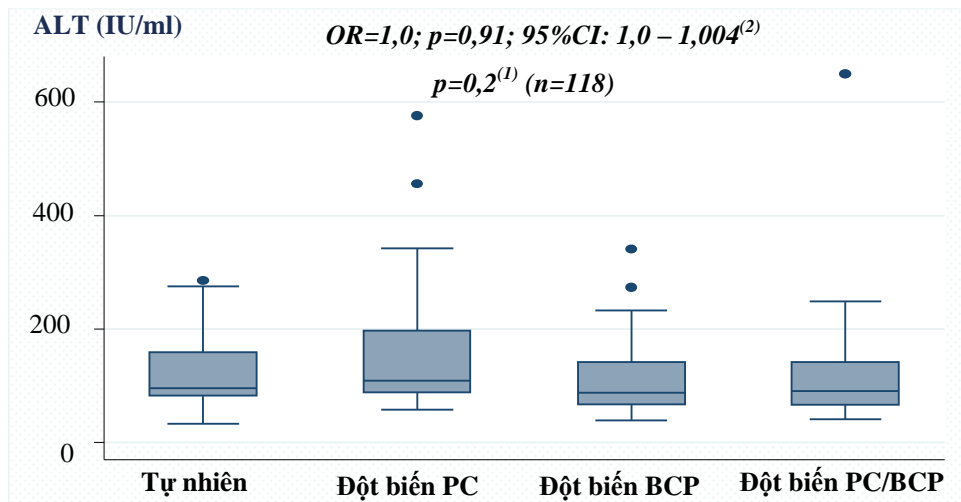
Trong số 89 BN nhiễm kiểu gen B có 85 BN có xét nghiệm đột biến PC/BCP, tỷ lệ HBeAg dương tính ở BN nhiễm chủng HBV tự nhiên cao hơn HBeAg âm tính (59,1% so với 14,6%), tỷ lệ đột biến PC và phối hợp PC/BCP ở BN HBeAg âm tính cao hơn BN HBeAg dương tính ($p=0,000$). Phân tích hồi quy logistic đơn biến, đột biến PC/BCP có liên quan đến tình trạng HBeAg ở BN nhiễm kiểu gen B ($p=0,000$).

Bảng 3.22: Liên quan giữa đột biến PC/BCP với HBeAg ở kiểu gen C

Đột biến PC/BCP	Tự nhiên	Đột biến PC/BCP			Tổng
		Đột biến PC	Đột biến BCP	Phối hợp PC/BCP	
HBeAg dương tính (n/%)	2 (13,3)	1 (6,7)	11 (73,3)	1 (6,7)	15 (100)
HBeAg âm tính (n/%)	1 (7,1)	1 (7,1)	10 (71,4)	2 (14,3)	14 (100)
p	0,53 ⁽¹⁾				
Phân tích hồi quy logistic đơn biến	OR=0,5; 95%CI: 0,04 - 6,22 và p=0,59 ⁽²⁾				

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Fisher's exact và ⁽²⁾hồi quy logistic)

Trong 32 BN nhiễm kiểu gen C có 29 BN xét nghiệm đột biến PC/BCP. Kết quả đối với các BN nhiễm kiểu gen C không thấy có sự khác biệt giữa các chủng HBV tự nhiên, đột biến PC/BCP ở BN HBeAg dương tính và HBeAg âm tính ($p=0,53$). Phân tích hồi quy logistic đơn biến không có mối liên quan giữa đột biến PC/BCP với tình trạng HBeAg ở BN nhiễm kiểu gen C ($p=0,59$).



Biểu đồ 3.24: Liên quan đột biến PC/BCP với ALT trung bình (n=118)
(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Kruskal Wallis và ⁽²⁾hồi quy logistic)

Khi so sánh ALT trung bình ở các nhóm đột biến PC/BCP cho thấy ALT trung bình ở nhóm BN nhiễm chủng HBV có đột biến PC là $161,7 \pm 134,5$ U/L cao hơn so với chủng HBV phối hợp đột biến PC/BCP, đột biến BCP và chủng HBV tự nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p=0,29$). Phân tích hồi quy logistic đơn biến không có mối liên quan giữa ALT với đột biến PC/BCP ($p=0,91$).

Bảng 3.23: Liên quan giữa đột biến PC/BCP với ALT trung bình và HBeAg

Đột biến	HBeAg dương tính		HBeAg âm tính	
	ALT (mean \pm SD) (U/L) (min-max)	p	ALT (mean \pm SD) (U/L) (min-max)	p
Chủng tự nhiên	129,6 \pm 68,7 (33- 275) (n=28)	0,88 ⁽¹⁾	121,8 \pm 85,5 (58 - 285) (n=8)	0,31 ⁽¹⁾
Đột biến PC	127,1 \pm 82,2 (69 - 342) (n=9)		183,9 \pm 158,4 (58 - 576) (n=14)	
Đột biến BCP	126,7 \pm 78,9 (39 -341) (n=22)		89,1 \pm 38,6 (41 - 189) (n=16)	
Phối hợp đột biến PC/BCP	135 (n=1)		130,3 \pm 133,3 (41 - 650) (n=20)	
Phân tích hồi quy logistic đơn biến	OR=1,0 95%CI=0,99 -1,01; p=0,89; ⁽²⁾		OR=1,0 95%CI=0,99-1,01; p=0,82 ⁽²⁾	

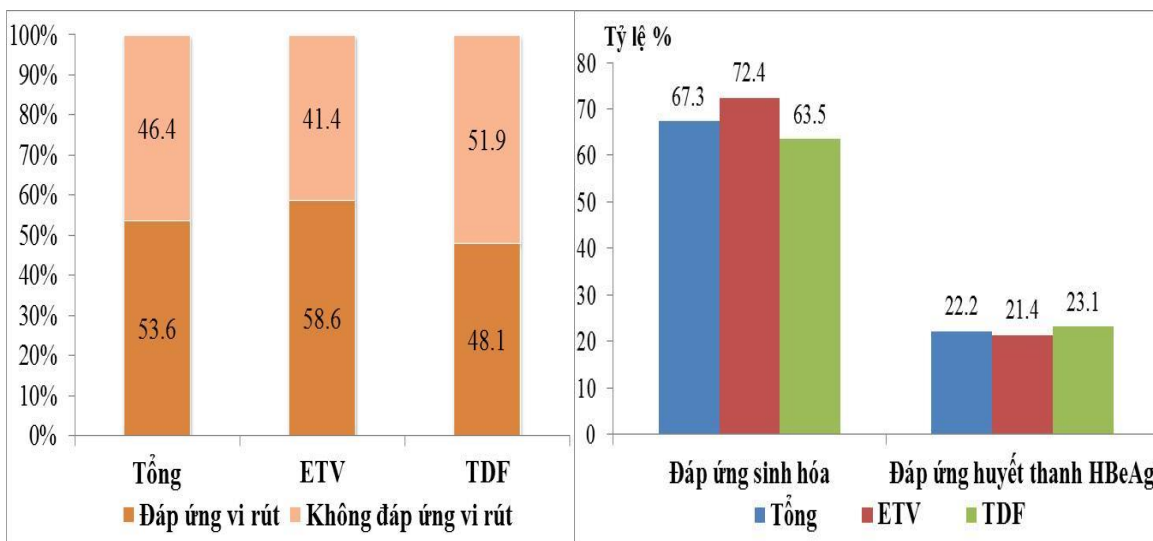
(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Kruskal Wallis và ⁽²⁾hồi quy logistic)

Kết quả ALT trung bình ở các nhóm BN không có và có đột biến PC/BCP theo tình trạng HBeAg không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$). Kết quả phân tích hồi quy logistic đơn biến không có mối liên quan giữa ALT với đột biến PC/BCP ở cả 2 nhóm BN HBeAg âm tính và HBeAg dương tính ($p>0,05$).

3.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị thuốc kháng vi rút

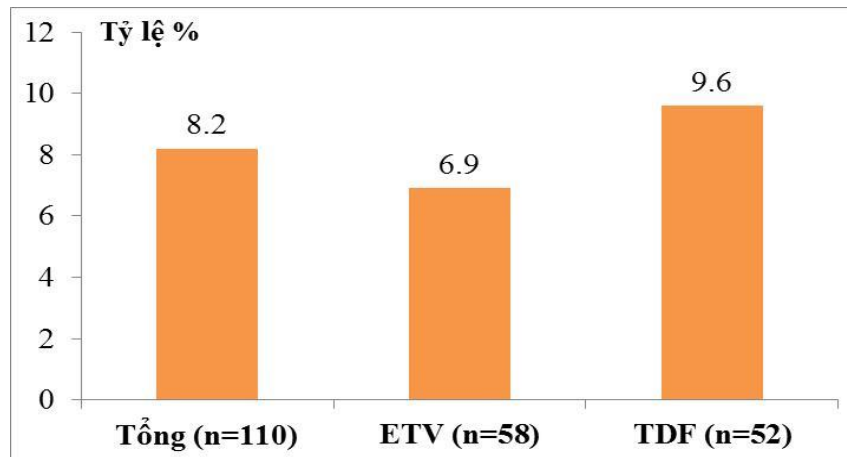
Trong 202 BN tham gia nghiên cứu có 110 BN hoàn thành thời gian điều trị 12 tháng với thuốc kháng vi rút (58 BN điều trị ETV và 52 BN điều trị TDF) và tuân thủ điều trị. Phân tích yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả của thuốc kháng vi rút sau điều trị 12 tháng chúng tôi thu được kết quả như sau:

3.3.1. Đáp ứng điều trị và đột biến kháng thuốc sau 12 tháng điều trị



Biểu đồ 3.25: Hiệu quả điều trị thuốc kháng vi rút: Đáp ứng vi rút (n=110), đáp ứng sinh hóa (n=110) và đáp ứng huyết thanh HBeAg (n=54)

Đánh giá hiệu quả điều trị thuốc kháng vi rút nhận thấy tỷ lệ đáp ứng vi rút là 53,6% (59 BN) trong đó 58,6% với ETV và 48,1% với TDF, tỷ lệ không đáp ứng vi rút là 46,4% (51 BN) trong đó 41,4% với ETV và 51,9% với TDF. Kết quả đáp ứng sinh hóa chung là 67,3% (72,4% với ETV và 63,5% với TDF) và đáp ứng huyết thanh HBeAg chung là 22,2% (21,4% với ETV và 23,1% với TDF).



Biểu đồ 3.26: Tỷ lệ bùng phát vi rút

Trong 110 BN theo dõi điều trị có 9 BN chiếm tỷ lệ 8,2% trong đó 4 BN điều trị ETV (6,9%) và 5 BN điều trị TDF (9,6%) có bùng phát vi rút sau 12 tháng điều trị thuốc kháng vi rút. Tiến hành giải trình tự gen P ở 9 BN có bùng phát vi rút để xác định đột biến kháng thuốc sau 12 tháng điều trị kết quả như sau:

Bảng 3.24: Đột biến kháng thuốc sau điều trị 12 tháng

Đột biến	Tổng (n=9)		ETV (n=4)		TDF (n=5)	
	Có (%)	Không (%)	Có (%)	Không (%)	Có (%)	Không (%)
M204I/V	0	100	0	100	0	100
I169T	0	100	0	100	0	100
V173L	0	100	0	100	0	100
L180M	0	100	0	100	0	100
A181T/V	0	100	0	100	0	100
T184G	0	100	0	100	0	100
S202I/G	0	100	0	100	0	100
N236T	0	100	0	100	0	100
M250V	0	100	0	100	0	100

Kết quả giải trình tự gen P không phát hiện các đột biến kháng thuốc với các thuốc kháng vi rút tại các vị trí như M204I/V, I169T, V173L, L180M, A181T/V, T184G, S202I/G, N236T và M250V.

3.3.2. Phân tích đặc điểm trước điều trị của bệnh nhân theo đáp ứng vi rút

Bảng 3.25: Đặc điểm bệnh nhân trước điều trị theo đáp ứng vi rút

Đặc điểm		Đáp ứng vi rút (n=59)	Không đáp ứng vi rút (n=51)	p
Nam giới (n/%)		34 (57,6)	38 (74,5)	p=0,06 ⁽¹⁾
Tuổi (Mean ± SD) (năm) (min - max)		42,7 ± 12,7 (17 - 70)	38,4 ± 13,6 (18 - 75)	p=0,046 ⁽²⁾
ALT	Mean±SD (U/L) (min-max)	144,3 ± 115,4 (41 - 650)	115,6 ± 72,7 (33 - 386)	p=0,22 ⁽²⁾
	<2 ULN (n/%)	11 (18,6)	9 (17,7)	p=0,33 ⁽¹⁾
	2-<5 ULN (n/%)	35 (59,3)	36 (70,6)	
	≥5 ULN (n/%)	13 (22,0)	6 (11,8)	
AST (Mean ± SD) (U/L) (min - max)		111 ± 117,9 (27 - 812)	73,6 ± 45,3 (17 - 217)	0,04 ⁽²⁾
Albumin (Mean ± SD) (g/L) (min - max)		41,4 ± 5 (24,3 - 51,2) (n=58)	40,9 ± 4,5 (29,3 - 51,2) (n=48)	0,27 ⁽²⁾
Bilirubin toàn phần (mean ± SD) (mmol/L) (min - max)		17,3 ± 13,9 (3,4 - 72,8)	13,8 ± 7,1 (4,2 - 32,8) (n=49)	0,38 ⁽²⁾
Tỷ lệ prothrombin (%) (mean±SD) (min-max)		78,1 ± 16,4 (44 - 113)	81,8 ± 15 (53,4 - 133,4)	0,28 ⁽²⁾
Fibrinogen (mean±SD) (g/L) (min - max)		2,7 ± 0,8 (1,3 - 4,6) (n=55)	2,9 ± 0,8 (1,6 - 4,9) (n=50)	0,39 ⁽²⁾
Tiểu cầu (mean ± SD) (10 ⁹ /L) (min - max)		170,6 ± 65 (51 - 339)	170,8 ± 58,8 (52 - 289)	0,9 ⁽²⁾

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Khi bình phương và ⁽²⁾Mann - Whitney)

Phân tích các đặc điểm của BN trước điều trị theo kết quả đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị thuốc kháng vi rút cho thấy không có sự khác biệt về các đặc điểm: Tuổi, giới tính, ALT trung bình, phân loại ALT, AST trung bình, phân loại AST, các xét nghiệm sinh hóa khác và huyết học (tiểu cầu máu, tỷ lệ prothrombin, fibrinogen) giữa nhóm BN có đáp ứng vi rút với BN không đáp ứng vi rút (p>0,05).

Bảng 3.26: Đặc điểm vi rút viêm gan B trước điều trị theo đáp ứng vi rút

Đặc điểm		Đáp ứng vi rút (n = 59)	Không đáp ứng vi rút (n = 51)	p
HBeAg dương tính (n/%)		20 (33,9)	34 (66,7)	$p=0,001^{(1)}$
Anti-HBe dương tính (n/%)		38 (64,4)	21 (41,2)	$p=0,02^{(1)}$
PC G1896A (n/%)		21 (35,6)	14 (27,5)	$p=0,36^{(1)}$
PC G1899A (n/%)		10 (17,0)	6 (12,0)	$p=0,47^{(1)}$
BCP A1762T (n/%)		32 (54,2)	21 (42,0)	$p=0,2^{(1)}$
BCP G1764A (n/%)		31 (52,5)	19 (38,8)	$p=0,15^{(1)}$
Kiểu gen	B (n/%)	41 (71,9)	36 (73,5)	$p=0,86^{(1)}$
	C (n/%)	16 (28,1)	13 (26,5)	
HBV- ADN (log ₁₀ IU/ml)	Mean ± SD (min - max)	6 ± 1,5 (3,1 - 8,9)	6,7 ± 1,5 (3,1 - 8,9)	$p=0,02^{(2)}$
	3-<5 (n/%)	18 (30,5)	8 (15,7)	$p=0,06^{(1)}$
	5-<8 (n/%)	36 (61,0)	32 (62,8)	
	≥8 (n/%)	5 (8,5)	11 (21,6)	

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Khi bình phương và ⁽²⁾Mann - Whitney)

Phân tích các đặc điểm của HBV trước điều trị theo kết quả đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị thuốc kháng vi rút cho thấy không có sự khác biệt về đột biến PC G1896A/ G1899A, BCP A1762T/G1764A và kiểu gen HBV giữa nhóm BN có đáp ứng vi rút với không đáp ứng vi rút ($p>0,05$). Những đặc điểm về vi rút học có sự khác biệt giữa BN đáp ứng vi rút với BN không đáp ứng vi rút là: Tỷ lệ HBeAg dương tính ở BN đáp ứng vi rút (33,9%) thấp hơn so với nhóm không đáp ứng vi rút (66,7%) ($p= 0,001$), tỷ lệ anti-HBe dương tính ở nhóm đáp ứng vi rút cao hơn so với nhóm không đáp ứng vi rút là 64,4% so với 41,2% ($p=0,02$). Tải lượng HBV-ADN trung bình ở nhóm BN đáp ứng vi rút là $6 \pm 1,5 \log_{10}$ IU/ml thấp hơn nhóm không đáp ứng vi rút ($6,7 \pm 1,5 \log_{10}$ IU/ml) ($p=0,02$). Khi phân mức độ HBV-ADN nhận thấy BN đáp ứng vi rút có tỷ lệ HBV-ADN từ 3-< 5 \log_{10} IU/ml cao hơn BN không đáp ứng vi rút (30,5% so với 15,7%), HBV-ADN $\geq 8 \log_{10}$ IU/ml nhóm BN có đáp ứng vi rút thấp hơn nhóm không đáp ứng vi rút ($p=0,06$).

Bảng 3.27: Đặc điểm vi rút viêm gan B trước điều trị theo đáp ứng vi rút với điều trị entecavir

Đặc điểm		Đáp ứng vi rút (n=34)	Không đáp ứng vi rút (n=24)	P
HBeAg dương tính (n/%)		10 (29,4)	18 (75,0)	$p=0,001^{(1)}$
Anti-HBe dương tính (n/%)		22 (64,7)	7 (29,2)	$p=0,008^{(1)}$
PC G1896A (n/%)		12 (35,3)	6 (25,0)	$p=0,4^{(1)}$
PC G1899A (n/%)		7 (20,6)	2 (8,7)	$p=0,2^{(2)}$
BCP A1762T (n/%)		17 (50,0)	7 (30,4)	$p=0,14^{(1)}$
BCP G1764A (n/%)		18 (52,9)	8 (33,3)	$p=0,14^{(1)}$
Kiểu gen HBV	B (n/%)	25 (75,8)	15 (65,2)	$p=0,39^{(1)}$
	C (n/%)	8 (24,2)	8 (34,8)	
HBV- ADN (log ₁₀ IU/ml)	Mean ± SD (min - max)	6,1 ± 1,63 (3,1 - 8,7)	7,0 ± 1,57 (3,9 - 8,9)	$p=0,04^{(2)}$
	3 - <5 (n/%)	10 (29,4)	3 (12,5)	$p=0,047^{(2)}$
	5 - <8 (n/%)	21 (61,8)	13 (54,2)	
	≥8 (n/%)	3 (8,8)	8 (33,3)	

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Khi bình phương, ⁽²⁾fisher's exact và ⁽³⁾Mann - Whitney)

Kết quả cho thấy trong nhóm BN điều trị ETV các đặc điểm về kiểu gen và đột biến PC/BCP (PC G1896A, PC G1899A, BCP A1762T và BCP G1764A) của HBV trước điều trị không có sự khác biệt giữa các nhóm BN có đáp ứng vi rút, không đáp ứng vi rút ($p>0,05$). Những đặc điểm về vi rút học có sự khác biệt giữa nhóm BN đáp ứng vi rút với nhóm BN không đáp ứng vi rút: Tỷ lệ HBeAg dương tính thấp hơn (29,4% so với 75% với $p=0,001$) ngược lại tỷ lệ anti-HBe dương tính cao hơn (64,7% so với 29,2% với $p<0,01$). Tải lượng HBV-ADN trước điều trị của nhóm BN đáp ứng vi rút là $6,1 \pm 1,6 \log_{10}$ IU/ml thấp hơn BN không đáp ứng vi rút là $7 \pm 1,6 \log_{10}$ IU/ml ($p=0,04$). Phân nhóm HBV-ADN nhận thấy ở nhóm BN có đáp ứng vi rút tỷ lệ HBV-ADN 3 - 5 \log_{10} IU/ml (29,4%) cao hơn BN không đáp ứng vi rút với (12,5%) và tỷ lệ HBV-ADN $\geq 8 \log_{10}$ IU/ml ở BN có đáp ứng vi rút (8,8%) thấp hơn BN không đáp ứng vi rút (33,3%) ($p=0,047$).

Bảng 3.28: Đặc điểm vi rút viêm gan B trước điều trị theo đáp ứng vi rút với điều trị tenofovir

Đặc điểm		Đáp ứng vi rút (n=25)	Không đáp ứng vi rút (n=27)	p
HBeAg dương tính (n/%)		10 (40,0)	16 (59,3)	p=0,17 ⁽¹⁾
Anti-HBe dương tính (n/%)		16 (64,0)	14 (51,8)	p=0,38 ⁽¹⁾
PC G1896A (n/%)		9 (36,0)	8 (29,6)	p=0,63 ⁽¹⁾
PC G1899A (n/%)		3 (12,0)	4 (14,8)	p=0,55 ⁽²⁾
BCP A1762T (n/%)		15 (60,0)	14 (51,9)	p=0,55 ⁽¹⁾
BCP G1764A (n/%)		13 (52,0)	11 (44,0)	p=0,57 ⁽¹⁾
Kiểu gen	B (n/%)	16 (66,7)	21 (80,8)	p=0,26 ⁽¹⁾
	C (n/%)	8 (33,3)	5 (19,2)	
HBV- ADN (log ₁₀ IU/ml)	Mean ± SD	6,0 ± 1,42	6,5 ± 1,48	p=0,17 ⁽³⁾
	(min - max)	(3,1- 8,9)	(3,1-8,6)	
	3-<5 (n/%)	8 (32,0)	5 (18,5)	p=0,57 ⁽²⁾
	5-<8 (n/%)	15 (60,0)	19 (70,4)	
≥8 (n/%)	2 (8,0)	3 (11,1)		

(Áp dụng thuật toán thống kê: ⁽¹⁾Khi bình phương, ⁽²⁾fisher's exact, ⁽³⁾Mann - Whitney)

Các yếu tố vi rút như kiểu gen HBV, tỷ lệ HBeAg dương tính, tỷ lệ anti-HBe dương tính, các đột biến PC/BCP (PC G1896A/G1899A, BCP A1762T/G1764A) và tải lượng HBV-ADN trước điều trị không thấy có sự khác biệt giữa nhóm BN có đáp ứng vi rút với nhóm BN không đáp ứng vi rút khi điều trị TDF (p>0,05).

3.3.3. Phân tích yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị thuốc kháng vi rút.

Bảng 3.29: Phân tích hồi quy logistic các yếu tố cơ thể bệnh nhân trước điều trị ảnh hưởng đến đáp ứng vi rút

Các yếu tố	Phân tích đơn biến				Phân tích đa biến		
	n	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p
Nam giới	110	0,47	0,21 - 1,05	0,07	3,7	1,3 - 10,9	0,02
Tuổi	110	1,03	1,0 - 1,06	0,09	1,05	1,01-1,09	0,02
Nồng độ ALT	110	1,0	0,999-1,008	0,14	1,002	0,99-1,01	0,7
Nồng độ AST	110	1,01	1,0004-1,01	0,04	1,01	0,99-1,01	0,21
Nồng độ albumin	106	1,02	0,94-1,1	0,65	1,1	1,001-1,2	0,049
Bilirubin toàn phần	108	1,03	0,99-1,07	0,13	1,04	0,98-1,24	0,19
Tỷ lệ prothrombin	110	0,99	0,96-1,009	0,23			
Nồng độ fibrinogen	105	0,8	0,49-1,29	0,35	0,7	0,39-1,2	0,22
Số lượng tiểu cầu	110	0,999	0,99-1,006	0,98			
<i>Kết quả phân tích đa biến: Tổng số mẫu = 102, p=0,003 và giá trị R²=0,15</i>							

(Áp dụng thuật toán thống kê: Phân tích hồi quy logistic)

Phân tích hồi quy logistic đơn biến nhận thấy các yếu tố cơ thể BN trước điều trị không có ảnh hưởng đến đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị thuốc kháng vi rút như nam giới, tuổi, ALT, AST, albumin máu, bilirubin toàn phần, tỷ lệ prothrombin, nồng độ fibrinogen và số lượng tiểu cầu.

Phân tích hồi quy logistic đa biến, các biến độc lập trong mô hình như nam giới (OR=3,7; 95%CI: 1,3 - 10,9; p=0,02), tuổi (OR=1,05; 95%CI: 1,01 - 1,09; p=0,02), albumin máu (OR=1,1; 95%CI 1,001 - 1,2; p=0,049) có ảnh hưởng tới đáp ứng vi rút sau điều trị 12 tháng. Nồng độ ALT, AST, bilirubin toàn phần và nồng độ fibrinogen không có ảnh hưởng tới đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị thuốc kháng vi rút (p>0,05) với p=0,003 và giá trị R²=0,15.

Bảng 3.30: Phân tích hồi quy logistic các yếu tố vi rút viêm gan B trước điều trị ảnh hưởng đến đáp ứng vi rút

Các yếu tố	Phân tích đơn biến				Phân tích đa biến		
	n	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p
HBeAg âm tính	110	3,9	1,76 - 8,62	0,001	5,4	1,7-17,6	0,005
Anti-HBe dương tính	110	2,59	1,2 - 5,59	0,02			
Kiểu gen B	110	0,93	0,39 - 2,18	0,86	1,03	0,34-3,13	0,96
PC G1896A	110	1,46	0,65 - 3,3	0,36	0,66	0,21-2,13	0,5
PC G1899A	110	1,5	0,5 - 4,46	0,47			
BCP A1762T	110	1,64	0,77 - 3,5	0,2	0,33	0,04-2,65	0,3
BCP G1764A	110	1,75	0,81 - 3,77	0,16	3,6	0,46-27,7	0,23
BCP A1762T/G1764A	110	1,72	0,79 - 3,75	0,17			
Tải lượng HBV-ADN	110	0,75	0,58 - 0,97	0,03	0,9	0,64-1,26	0,54
<i>Kết quả phân tích đa biến: Tổng số mẫu = 103, p=0,006 và giá trị R²=0,13</i>							

(Áp dụng thuật toán thống kê: Phân tích hồi quy logistic)

Phân tích hồi quy logistic đơn biến với các yếu tố vi rút viêm gan B trước điều trị ảnh hưởng đến đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị thuốc kháng vi rút nhận thấy các yếu tố như kiểu gen B của HBV và các đột biến PC/BCP (G1896A, G1899A, A1762T, G1764A và A1762T/G1764A) không có ảnh hưởng đến đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị ($p > 0,05$). Các yếu tố vi rút có ảnh hưởng đến đáp ứng vi rút là HBeAg âm tính (OR=3,9; 95%CI: 1,76 - 8,62 và $p=0,001$), anti-HBe dương tính (OR=2,59; 95%CI: 1,2 - 5,59 và $p=0,02$), tải lượng HBV-ADN (OR=0,75; 95%CI: 0,58 - 0,97 và $p=0,03$).

Phân tích hồi quy logistic đa biến, sự thay đổi các biến độc lập trong mô hình như HBeAg âm tính (OR=5,4; 95%CI: 1,7 - 17,6; $p=0,005$) có ảnh hưởng tới đáp ứng vi rút sau điều trị 12 tháng. Tải lượng HBV-ADN, kiểu gen B của HBV, đột biến BCP A1762T, BCP G1764A không ảnh hưởng tới đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị thuốc kháng vi rút ($p > 0,05$) với $p=0,006$ và giá trị $R^2=0,13$.

Bảng 3.31: Phân tích hồi quy logistic các yếu tố cơ thể bệnh nhân ảnh hưởng đến đáp ứng huyết thanh HBeAg

Các yếu tố	Phân tích đơn biến				Phân tích đa biến		
	n	OR	95% CI	p	OR	95%CI	p
Nam giới	54	0,75	0,21 - 2,71	0,66	0,44	0,07-2,93	0,39
Tuổi	54	0,97	0,91 - 1,04	0,4	0,97	0,88-1,07	0,6
Nồng độ ALT	54	1,0	0,99 - 1,01	0,9	1,003	0,99-1,02	0,74
Nồng độ AST	54	0,995	0,98-1,009	0,53	0,99	0,97-1,03	0,73
Nồng độ albumin	50	0,92	0,76 - 1,1	0,35	0,85	0,65-1,1	0,23
Bilirubin toàn phần	52	0,94	0,83 - 1,08	0,4	0,92	0,76-1,1	0,41
Tỷ lệ prothrombin	54	1.02	0,98 - 1,06	0,36	1,02	0,97-1,08	0,36
Nồng độ fibrinogen	50	1.47	0,62 - 3,51	0,38	1,25	0,41-3,84	0,7
Số lượng tiểu cầu	54	1,001	0,99 - 1,01	0,8			
<i>Kết quả phân tích đa biến: Tổng số mẫu = 47, p=0,7 và giá trị R²=0,12</i>							

(Áp dụng thuật toán thống kê: Phân tích hồi quy logistic)

Phân tích hồi quy logistic đơn biến và đa biến yếu tố cơ thể BN trước điều trị ảnh hưởng đến đáp ứng huyết thanh HBeAg trên 54 BN HBeAg dương tính nhận thấy các yếu tố như nam giới, tuổi, ALT, AST, albumin máu, bilirubin toàn phần, tỷ lệ prothrombin, nồng độ fibrinogen, số lượng tiểu cầu không ảnh hưởng đến đáp ứng huyết thanh HBeAg ($p > 0,05$) ($p = 0,7$ và giá trị $R^2 = 0,12$).

Bảng 3.32: Phân tích hồi quy logistic các yếu tố vi rút viêm gan B trước điều trị ảnh hưởng đến đáp ứng huyết thanh HBeAg

Các yếu tố	Phân tích đơn biến				Phân tích đa biến		
	n	OR	95% CI	p	OR	95%CI	p
Kiểu gen B của HBV	54	0,73	0,18 - 2,93	0,66	1,7	0,21-14,2	0,61
PC G1896A	54	0,86	0,09 - 8,54	0,9	1,02	0,08-12,4	0,99
PC G1899A	54	1,3	0,12 - 13,9	0,83	1,54	0,12-19,4	0,74
BCP A1762T	54	1,79	0,47 - 6,74	0,39	3,5	4,63 - 2,64	0,000
BCP G1764A	54	1,08	0,27 - 4,23	0,92			
BCP A1762T/G1764A	54	1,21	0,31 - 4,78	0,79			
Tải lượng HBV-ADN	54	0,8	0,48 - 1,31	0,37	0,95	0,5-1,8	0,88
<i>Kết quả phân tích đa biến: Tổng số mẫu = 51, p=0,61 và giá trị R²=0,08</i>							

(Áp dụng thuật toán thống kê: Phân tích hồi quy logistic)

Phân tích yếu tố của vi rút viêm gan B ảnh hưởng đến chuyển đảo huyết thanh HBeAg trên 54 BN HBeAg dương tính sau 12 tháng điều trị thuốc kháng vi rút:

Phân tích hồi quy logistic đơn biến nhận thấy các yếu tố như kiểu gen B của HBV, tải lượng HBV-ADN, đột biến PC/BCP không ảnh hưởng đến đáp ứng huyết thanh HBeAg ($p > 0,05$).

Tiến hành phân tích hồi quy logistic đa biến không thấy mối liên quan với đáp ứng huyết thanh HBeAg sau 12 tháng điều trị giữa kiểu gen B của HBV, đột biến PC G1896A, G1899A và tải lượng HBV-ADN ($p > 0,05$) tuy nhiên đột biến BCP A1762T (OR=3,5; 95%CI: 4,63 - 2,64; $p=0,000$) có ảnh hưởng đến đáp ứng vi rút ($p=0,61$ và giá trị $R^2=0,08$).

Bảng 3.33: Phân tích hồi quy logistic các yếu tố cơ thể bệnh nhân trước điều trị ảnh hưởng đáp ứng sinh hóa

Các yếu tố	Phân tích đơn biến				Phân tích đa biến		
	n	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p
Nam giới	110	0,82	0,35 - 1,92	0,64			
Tuổi	110	0,97	0,94 - 1,0	0,06	0,97	0,94 - 1,01	0,17
Nồng độ ALT	110	0,999	0,995 - 1,0	0,79	0,99	0,99 - 1,004	0,4
Nồng độ AST	110	0,999	0,99-1,002	0,49	1,001	0,99-1,008	0,72
Nồng độ albumin	106	1,14	1,04 - 1,25	0,007	1,15	1,02 - 1,3	0,02
Bilirubin toàn phần	108	0,98	0,95 - 1,01	0,21	0,99	0,95 - 1,05	0,93
Tỷ lệ prothrombin	110	1,02	0,996 - 1,05	0,097			
Nồng độ fibrinogen	105	1,13	0,68 - 1,89	0,63			
Số lượng tiểu cầu	110	1,005	0,998 - 1,01	0,16			
<i>Kết quả phân tích đa biến: Tổng số mẫu = 102, p=0,042 và giá trị R²=0,1</i>							

(Áp dụng thuật toán thống kê: Phân tích hồi quy logistic)

Kết quả nhận thấy khi phân tích hồi quy logistic đơn biến và đa biến nồng độ albumin máu có liên quan đến đáp ứng sinh hóa sau điều trị 12 tháng ($p < 0,05$). Các yếu tố khác như nam giới, tuổi, ALT, AST, bilirubin toàn phần, tỷ lệ prothrombin, nồng độ fibrinogen và số lượng tiểu cầu không ảnh hưởng tới đáp ứng sinh hoá sau điều trị 12 tháng ($p > 0,05$) ($p = 0,042$ và giá trị $R^2 = 0,1$).

Bảng 3.34: Phân tích hồi quy logistic các yếu tố vi rút viêm gan B trước điều trị ảnh hưởng đáp ứng sinh hóa

Các yếu tố	Phân tích đơn biến				Phân tích đa biến		
	n	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p
HBeAg âm tính	110	0,49	0,22 - 1,12	0,09	0,6	0,2 - 1,96	0,39
Kiểu gen B của HBV	110	1,24	0,5 - 3,06	0,65	1,62	0,5 - 5,3	0,42
PC G1896A	110	1,53	0,63 - 3,75	0,35	3,7	1,04 - 12,9	0,043
PC G1899A	110	0,76	0,25 - 2,28	0,62	0,86	0,23 - 3,2	0,82
BCP A1762T	110	0,6	0,27 - 1,36	0,22	0,2	0,013 - 1,78	0,13
BCP G1764A	110	0,88	0,39 - 2,0	0,76	8,3	0,7-99,5	0,09
BCP A1762T/G1764A	110	0,81	0,36 - 1,84	0,62			
Tải lượng HBV-ADN	110	1,38	1,05 - 1,8	0,02	1,48	1,02 - 2,2	0,039
<i>Kết quả phân tích đa biến: Tổng số mẫu = 102, p=0,03 và giá trị R²=0,13</i>							

(Áp dụng thuật toán thống kê: Phân tích hồi quy logistic)

Kết quả nhận thấy khi phân tích hồi quy logistic đơn biến tải lượng HBV-ADN (OR: 1,38; 95%CI: 1,05 - 1,8; p=0,02) có liên quan đến đáp ứng sinh hóa sau điều trị 12 tháng. Các yếu tố khác như kiểu gen B của HBV, HBeAg âm tính và đột biến PC/BCP không ảnh hưởng tới đáp ứng sinh hoá sau điều trị 12 tháng (p>0,05).

Phân tích hồi quy logistic đa biến nhận thấy đột biến PC G1896A (OR=3,7; 95%CI: 1,04 - 12,9; p=0,043), tải lượng HBV-ADN (OR=1,48; 95%CI: 1,02 - 2,2; p=0,039) có ảnh hưởng tới đáp ứng sinh hóa sau 12 tháng điều trị. Những yếu tố như kiểu gen B của HBV, HBeAg âm tính, đột biến BCP A1762T, G1764A và PC G1899A không ảnh hưởng tới đáp ứng sinh hóa sau 12 tháng điều trị (p>0,05) (p=0,03 và giá trị R²=0,13).

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm dịch tễ và sinh học phân tử của vi rút viêm gan B

Viêm gan vi rút B mạn là bệnh truyền nhiễm thường gặp do HBV gây nên. Mặc dù bệnh đã có vắc xin phòng bệnh nhưng theo báo cáo của WHO năm 2012 ước tính có khoảng 50 triệu người nhiễm HBV mới hàng năm [162], bệnh thường tử vong do những hậu quả của bệnh như xơ gan và HCC. Nghiên cứu của chúng tôi được thực hiện trên 202 BN viêm gan vi rút B mạn có điều trị thuốc kháng vi rút dựa vào tải lượng HBV-ADN và ALT huyết thanh [102], bằng chứng của vi rút nhân lên và hủy hoại tế bào gan nhiễm vi rút dưới tác động của đáp ứng miễn dịch. Về các đặc điểm dịch tễ học chúng tôi nhận thấy tỷ lệ BN nam giới chiếm đa số 63,9% (biểu đồ 3.1). Tuổi trung bình chung là $39,6 \pm 13,3$ (tuổi) trong đó nam giới là $39,4 \pm 13,9$ (tuổi) và nữ giới là 40 ± 14 (tuổi) ($p > 0,05$) (bảng 3.1). Tuổi của BN nghiên cứu phân bố đều ở các lứa tuổi từ 17 - 78 tuổi với tỷ lệ nhóm <30 tuổi là 28,7%; 30 - <40 tuổi là 23,8%; 40 - <50 tuổi là 20,8% và có 9,9% số BN ≥ 60 tuổi, BN cao tuổi nhất là 78 tuổi. Số lượng BN dưới 40 tuổi chiếm 52,5% và từ 40 tuổi trở lên là 47,5% (bảng 3.1). Kết quả cũng cho thấy không có sự khác biệt về phân bố các nhóm tuổi theo giới tính ($p = 0,87$) (bảng 3.1). Có nhiều giả thuyết đưa ra để giả thích tại sao nam giới bị viêm gan vi rút B mạn nhiều hơn nữ giới, có thể là do đường lây của HBV như tiêm chích, xăm mình hay tình dục không an toàn cũng có thể do cách sống, nghề nghiệp của nam giới. Nhưng giả thuyết được nhiều tác giả công nhận hơn cả có liên quan đến hormon nhất là vai trò của glucocorticoid, androgen. Tại những nước lây truyền HBV từ mẹ sang con là chủ yếu, khả năng lây nhiễm HBV cho trẻ nam và nữ như nhau ở trong thời kỳ chu sinh, do đó khi trẻ bị nhiễm HBV tỷ lệ chuyển thành nhiễm HBV mạn ở trẻ nam sẽ cao hơn trẻ nữ. Kết quả nghiên cứu của Liu CJ (2006) trên 160 BN nhiễm vi rút viêm gan vi rút B mạn cho thấy tỷ lệ nam giới chiếm 64,4% (103/160), tuổi trung bình là $32,5 \pm 10$ tuổi và phân bố theo lứa tuổi <30 tuổi là 37,5%; 30 - 39 tuổi là 31,3%; 40 - 49 tuổi là

21,3%; 50 - 59 tuổi là 3,8% và ≥ 60 tuổi là 1,3% [99]. Kết quả nghiên cứu của Kobayashi M (Nhật Bản - 2008) BN nhiễm HBV mạn ≤ 39 tuổi là 55%, 40 - 59 tuổi là 38% và ≥ 60 tuổi là 7% [82]. Tương tự nghiên cứu của Yang H (Đài Loan - 2008) trên những BN viêm gan vi rút B mạn người trưởng thành cho thấy lứa tuổi mắc bệnh từ 30 - 39 tuổi là 33,6%; 40 - 49 tuổi là 28,4%; 50 - 59 tuổi là 28,9% và 60 - 65 tuổi là 9,1% [168]. Tuy nhiên nghiên cứu của Xiao L (Trung Quốc - 2011) nhận thấy tỷ lệ nam giới lên tới 83,1% (113/136) và tuổi trung bình là $36,9 \pm 11,9$ tuổi [163]. Những kết quả nghiên cứu khác cũng cho thấy tỷ lệ nam giới bị viêm gan vi rút B mạn chiếm đa số và lứa tuổi trung bình từ 35 - 45 tuổi [82],[115],[154],[181].

Trong nghiên cứu của chúng tôi đa số BN phát hiện nhiễm HBV lần đầu tiên khi trên 16 tuổi chiếm tới 98,5%; chỉ có 3 BN (1,5%) phát hiện bệnh khi đang ở độ tuổi thiếu niên 6 - <16 tuổi (bảng 3.6). Đồng thời tỷ lệ BN phát hiện nhiễm HBV ≥ 10 năm chiếm tỷ lệ rất thấp với 8,9%; từ 5 - <10 năm là 16,8% và từ 1 - <5 năm là 30,7% có tới 43,6% BN được phát hiện nhiễm HBV từ 6 - <12 tháng (bảng 3.6). Bên cạnh đó tuổi trung bình của BN nghiên cứu là $39,6 \pm 13,9$ (tuổi) (bảng 3.1). Mặt khác Việt Nam nằm ở trong vùng có tỷ lệ nhiễm HBV cao và lây truyền bệnh chủ yếu là từ mẹ sang con trong thời kỳ chu sinh. Như vậy đa số BN viêm gan vi rút B mạn phát hiện nhiễm HBV khi BN đã trưởng thành do đó thời gian được phát hiện nhiễm HBV so với thời gian nhiễm HBV thực rất chậm. Khi phân tích thời gian phát hiện nhiễm HBV đến khi khám bệnh của những BN sống tại Hà Nội và ở các tỉnh khác nhận thấy tỷ lệ BN có thời gian 6 - <12 tháng của BN sống ở Hà Nội là 36,6% thấp hơn BN sống ở các tỉnh khác (54,4%) ($p=0,03$) (bảng 3.7). Sự khác biệt này có thể do những BN hiện tại sống tại Hà Nội được thông tin đầy đủ về nhiễm HBV mạn, những hậu quả do bệnh gây ra, có ý thức quan tâm đến sức khỏe và họ có điều kiện kinh tế hơn so với những BN ở các tỉnh khác. Nhưng thời gian phát hiện nhiễm HBV đến khi khám bệnh không có sự khác biệt giữa nhóm BN dưới 40 tuổi và nhóm BN từ 40 tuổi trở lên ($p=0,26$) (bảng 3.8). Trong tổng số 202 BN nghiên cứu có tới 88,1% BN chưa bao giờ tiêm phòng vắc xin viêm gan B, chỉ có 10,9% BN trước đó có tiêm vắc xin phòng HBV (biểu đồ 3.2), tuy nhiên trước khi

tiêm vắc xin phòng bệnh viêm gan vi rút B, BN thường không được xét nghiệm máu để kiểm tra tình trạng nhiễm HBV.

Bệnh nhân viêm gan vi rút B mạn có thể ở tất cả các lứa tuổi khác nhau cũng như các ngành nghề khác nhau như viên chức hành chính là 26,7%; làm ruộng là 15,8%; hưu trí là 11,4% (bảng 3.2). Khi phân tích phân bố nghề nghiệp của BN theo giới tính có sự khác biệt về nghề nghiệp giữa BN nam và nữ như tỷ lệ là công nhân ở nam giới cao hơn nữ giới (11,6% so với 1,4%), giáo viên ở BN nữ cao hơn nam (12,3% so với 3,1%) ($p=0,02$) (bảng 3.2). Tỷ lệ BN có trình độ từ trung học phổ thông chiếm >70% trong đó 39,5% có trình độ từ cao đẳng trở lên (bảng 3.4) với đại bộ phận BN sống ở thành phố, thị xã của các tỉnh phía Bắc chiếm 55,4% và chỉ có 2,5% BN sống ở miền núi (bảng 3.3). Tỷ lệ BN sống tại Hà Nội chiếm đa số chiếm tới 60,9% (bảng 3.3) và trình độ học vấn không có sự khác biệt giữa BN sống tại Hà Nội với những BN ở các tỉnh thành phố khác (bảng 3.5). Kết quả này có thể do bệnh viện Bạch Mai là bệnh viện đa khoa tuyến cuối đa số BN đến khám và điều trị là những BN nặng hoặc có điều kiện từ các tỉnh chuyển đến, những BN sống tại Hà Nội và các tỉnh lân cận đến khám và điều trị. Thói quen uống nhiều rượu có liên quan đến mức độ nặng của bệnh gan. Rượu gây độc cho gan và có thể làm nặng thêm tổn thương gan do HBV. Những người nhiễm HBV mạn và uống rượu thường xuyên có nguy cơ cao dẫn đến xơ gan và HCC hơn những người mang HBV không uống rượu hoặc những người uống rượu nhưng không nhiễm HBV. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy tỷ lệ BN có tiền sử uống rượu chiếm 31,7% (biểu đồ 3.2). Tỷ lệ BN uống rượu trong nghiên cứu của Yang H (Đài Loan - 2008) là 11,4% [168].

Vi rút viêm gan B có thể lây truyền qua máu, do tiếp xúc trực tiếp với máu, các chất dịch cơ thể bị nhiễm HBV, sử dụng các dụng cụ y khoa hay các dụng cụ sinh hoạt có nhiễm máu của những người nhiễm HBV như dao cạo râu, bàn chải đánh răng. HBV cũng có thể lây qua quan hệ tình dục không an toàn với người nhiễm HBV và lây truyền từ mẹ sang con. Như vậy những người trong gia đình như vợ/chồng, bố mẹ, con và anh chị em ruột của BN viêm gan vi rút B mạn là những người có nguy cơ cao lây nhiễm HBV. Kết quả bảng 3.4 cũng cho thấy có 82,7%

BN đã có vợ/chồng và hiện đang sống cùng nhau, chỉ có 17,3% chưa có vợ/chồng. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy không phải tất cả các thành viên trong gia đình của người nhiễm HBV đều được xét nghiệm xác định tình trạng nhiễm HBV. Trong số các thành viên trong gia đình của BN viêm gan vi rút B mạn đã được xét nghiệm phát hiện HBV, tỷ lệ nhiễm HBV của anh/chị em ruột với BN chiếm tỷ lệ cao với 53,5% (n=127), con BN là 31,1% (n=106); mẹ là 30,9% (n=81) và tỷ lệ vợ/chồng nhiễm HBV là 12,1% (n = 124) (bảng 3.9). Tỷ lệ những người trong gia đình BN phát hiện HCC đều dưới 5% như anh/chị em ruột là 4,9% (n=184), mẹ là 2,7%, bố là 2,2% (n=183) và chưa phát hiện vợ/chồng hay con bị HCC (bảng 3.9). Kết quả nghiên cứu của tác giả Nguyen LH (2009) ở những BN Mỹ gốc Việt nhận thấy tiền sử gia đình có nhiễm HBV là 19% và HCC là 10% [115] và nghiên cứu của tác giả Nguyen MH (2009) cũng nhận thấy tỷ lệ tiền sử gia đình có nhiễm HBV là 19% và 11% gia đình có HCC [116].

Về các đặc điểm kiểu gen của HBV, tiêu chuẩn vàng để xác định kiểu gen của HBV là dựa trên sự khác nhau của gen trong toàn bộ gen của HBV. Hiện nay đã xác định HBV ở người có 10 kiểu gen được đặt tên từ A đến J (với sự khác nhau >8% trong bộ gen) [98]. Đáng chú ý phân bố kiểu gen HBV có liên quan đến đặc điểm dịch tễ học đặc biệt phân bố địa lý. Những khu vực HBV lây truyền qua quan hệ tình dục không an toàn hoặc lây truyền ngang là những vùng có kiểu gen A và D phổ biến như các nước châu Âu, châu Phi cận Sahara, Địa Trung Hải, Trung Đông và Ấn Độ, trong khi lây truyền dọc chủ yếu là kiểu gen B và C như khu vực Đông Á - Thái Bình Dương. Do đó kiểu gen B và C của HBV thường gặp ở Đông và Nam Á, là kiểu gen của các nước châu Á bao gồm cả những người gốc châu Á di cư. Hiện nay kiểu gen B được chia thành các dưới kiểu gen B1 đến B6, trong số đó B1 được phân lập ở Nhật Bản, B2 - B5 phân lập được ở Đông Á và B6 phát hiện ở những thổ dân sống ở Bắc Cực như Alaska, Bắc Canada và Greenland. Kiểu gen C bao gồm các dưới kiểu gen C1 - C5 chủ yếu ở Đông Á và Đông Nam Á [98]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy trong 121 BN xác định kiểu gen có 2 kiểu gen là B và C trong đó có 73,6% kiểu gen B và 26,4% kiểu gen C (hình 3.1). Trong

số 73,6% kiểu gen B thì dưới kiểu gen B4 là 66,1% và B3 là 7,5%. Trong 26,4% kiểu gen C, dưới kiểu gen C1 chỉ chiếm 0,8% và C2 là 25,6% (hình 3.1). Trong một nghiên cứu mới đây nhận thấy dưới kiểu gen Ba, C1 và C2 của HBV là những biến thể của HBV phổ biến nhất tại Trung Quốc [156]. Kết quả nghiên cứu 567 BN viêm gan vi rút B mạn tại Hoa Kỳ có gốc Việt Nam và Trung Quốc nhận thấy 2 kiểu gen được xác định là kiểu gen B chiếm 70% và kiểu gen C là 28% [115]. Các nghiên cứu khác tại các nước ở châu Á cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của chúng tôi với 2 kiểu gen chính là B và C trong đó kiểu gen B chiếm đa số như tại Trung Quốc [129],[163] và Đài Loan [99],[100],[149],[168] nhưng có một số nghiên cứu của các tác giả trên các BN ở châu Á đặc biệt tại Nhật Bản nhận thấy kiểu gen C chiếm đa số như nghiên cứu của Kobayashi với kiểu gen C là 84,5% [82], nghiên cứu của Imamura là 50,8% [67], nghiên cứu Orito.E là 84,7% [120] hay nghiên cứu của Ren X ở Trung Quốc là 82,6% [127] và Du H là 63,6% [48]. Tại Việt Nam, theo một số nghiên cứu của các tác giả Bùi Hữu Hoàng, Đông Thị Hoài An, Lê Thị Thanh Thủy, Nguyễn Trường Sơn, Nguyễn Công Long nghiên cứu trên các đối tượng thuộc các khu vực khác nhau tại miền Bắc và miền Nam Việt Nam đều phát hiện được 2 kiểu gen là B và C với các tỷ lệ dao động là 60 - 80% với kiểu gen B, 20 - 30% với kiểu gen C [1],[6],[7],[9],[14],[145]. Trong nghiên cứu của Trần Thiện Tuấn Huy và cộng sự (2003) về kiểu gen của HBV trên 90 BN ở Thành phố Hồ Chí Minh nhận thấy kiểu gen C của HBV là 57%, kiểu gen B là 43% [147], như vậy tỷ lệ kiểu gen C cao hơn kiểu gen B, có thể do trong nhóm BN nghiên cứu này, tỷ lệ người mắc bệnh gan mạn có các biến chứng nặng như xơ gan và ung thư gan chiếm tỷ lệ cao hơn BN nhiễm HBV mạn không có biến chứng, mà theo kết quả các nghiên cứu cho thấy rằng kiểu gen C có liên quan nhiều đến xơ gan và HCC. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về phân bố kiểu gen HBV tương tự như kết quả nghiên cứu theo dõi tiến triển nhiễm HBV mạn thực hiện tại Đài Loan [34].

Tải lượng HBV-ADN là xét nghiệm để đánh giá sự tồn tại và nhân lên của HBV nhất là khi có đột biến PC/BCP của HBV làm cho HBeAg âm tính nhưng HBV vẫn hoạt động. Tải lượng HBV-ADN huyết thanh có giá trị tiên lượng, xác

định tính lây nhiễm, chỉ định điều trị và theo dõi trong suốt quá trình điều trị. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tải lượng HBV-ADN trung bình là $6,4 \pm 1,5 \log_{10} \text{IU/ml}$, trong đó tỷ lệ HBV-ADN từ $5 - < 8 \log_{10} \text{IU/ml}$ là 64,4% và $\geq 8 \log_{10} \text{IU/ml}$ là 16,3% (bảng 3.10). Tác giả Utama A (2011) nghiên cứu 64 BN viêm gan vi rút B mạn nhận thấy tải lượng HBV-ADN là $6,1 \pm 2,1 \log_{10} \text{IU/ml}$ [152]. Nghiên cứu của Pan CQ (Hồng Công - 2014) cũng nhận thấy tải lượng HBV-ADN là $7,5 \pm 1,8 \log_{10}$ bản sao/ml [121]. Tải lượng HBV-ADN đánh giá sự nhân lên của vi rút, trong nghiên cứu tiên cứu Yu MW (2005) thấy rằng tải lượng HBV-ADN ở kiểu gen C cao hơn kiểu gen B [175], tương tự Sumi (2003) cũng nhận thấy tải lượng HBV-ADN ở BN nhiễm kiểu gen C cao hơn kiểu gen B ($6,35 \pm 1,57 \log_{10}$ bản sao/ml so với $5,67 \pm 1,83 \log_{10}$ bản sao/ml với $p=0,034$) [139]. Du H (2007), Fung SK (2006), Xibing G (2012) cũng có kết quả tương tự [48],[57],[165]. Nhưng kết quả nghiên cứu của Orito E (2001), Yanli Qin (2009) cũng nhận thấy không có sự khác biệt tải lượng HBV-ADN giữa kiểu gen B và C [119],[124]. Kết quả của chúng tôi cho thấy rằng tải lượng HBV-ADN kiểu gen C là $6,5 \pm 1,3 \log_{10} \text{IU/ml}$ cao hơn kiểu gen B là $6,3 \pm 1,7 \log_{10} \text{IU/ml}$ tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p=0,9$) (bảng 3.11). Sự phân bố của các tải lượng HBV-ADN theo các mức độ khác nhau cũng không có sự khác biệt giữa kiểu gen B và C (bảng 3.11).

Kiểu gen của HBV thể hiện tính ổn định của quần thể vi rút ở từng khu vực địa lý và có sự phân bố địa lý khác nhau. HBV có tốc độ nhân lên cao nhưng khả năng hiệu chỉnh tại polymerase thiếu hiệu quả là cơ sở cho sự phát triển các đột biến trong bộ gen của vi rút. Những nghiên cứu gần đây cho thấy tỷ lệ đột biến vùng PC (G1896A) và đột biến kép ở vùng BCP ở vị trí nucleotit 1762 và 1764 (A1762T/G1764A) có thể ảnh hưởng đến tiến triển của bệnh cũng như liên quan đến kiểu gen HBV. Năm 1989, các tác giả phát hiện những BN nhiễm HBV tiến triển nhanh đến viêm gan vi rút B mạn, những BN này có HBeAg âm tính, anti-HBe dương tính, HBV-ADN cao và được xác định có đột biến tại vùng PC. Những đột biến này làm giảm sự nhân lên của HBV và đột biến phổ biến nhất là thay thế G bằng A ở vị trí 1896 do đó mã di truyền 28 trên vùng PC là TGG sẽ bị biến đổi

thành TAG, tạo nên 1 mã di truyền kết thúc làm ức chế sự tổng hợp HBeAg nhưng tổng hợp HBcAg không bị ảnh hưởng nên HBV vẫn tạo được phần lõi.

Đột biến BCP là đột biến HBV quan trọng, gồm đột biến BCP A1762T và BCP G1764A. Các đột biến này liên quan đến mức độ nặng của tổn thương gan và tăng nguy cơ HCC ở BN nhiễm kiểu gen C. Các đột biến PC/BCP có thể đơn thuần hoặc phối hợp trên cùng một BN và HBV tiếp tục nhân lên mặc dù HBeAg âm tính. Như vậy đột biến gen của HBV đang được các nhà khoa học trên thế giới và Việt Nam rất quan tâm ở những khía cạnh khác nhau, đặc biệt là đột biến xảy ra trên vùng gen PC/BCP. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ đột biến PC G1896A là 29,8%; PC G1899A là 15,5%; BCP A1762T là 47,9%; BCP G1764A là 44,6% và đột biến kép BCP A1762T/G1764A là 42,9%, phối hợp 3 đột biến PC/BCP G1896A/A1762T/G1764A là 12,6% và 4,2% có phối hợp cả 4 loại đột biến này trên cùng BN (hình 3.2). Nghiên cứu của Ren X tại Trung Quốc (2010) nhận thấy tỷ lệ đột biến PC G1896A là 32%, PC G1899A là 6,7% nhưng tỷ lệ đột biến BCP A1762T và G1764A cao hơn tương ứng là 52,4% và 54% [127]. Kết quả của chúng tôi cũng có tỷ lệ đột biến PC G1896A tương tự như tác giả Choi JW (Hàn Quốc - 2009) (28%) nhưng tỷ lệ đột biến BCP A1762T/G1764A thấp hơn (86,9%) [40]. Tuy nhiên khi đánh giá sự phân bố của các đột biến PC/BCP này trên từng BN nhận thấy trong số 69,5% BN có đột biến PC/BCP có 20,3% BN chỉ có 1 loại đột biến với tỷ lệ 11,9% là PC G1896A, 4,2% là PC G1899A, 2,5% là BCP A1762T và 1,7% là BCP G1764A, trong khi đó có tới 49,2% BN có ít nhất 2 đột biến PC/BCP trên cùng BN với tỷ lệ cao nhất là đột biến kép BCP A1762T/G1764A chiếm 28% và 4,2% có cả 4 loại đột biến trên cùng 1 BN (hình 3.3). Kết quả nghiên cứu của Nguyen LH (2009) trên 478 BN viêm gan vi rút B mạn gốc Việt sống tại Hoa Kỳ nhận thấy tỷ lệ BN có đột biến PC/BCP là 72% trong đó tỷ lệ BN chỉ có đột biến PC là 34%, chỉ có đột biến BCP là 21% và phối hợp đột biến PC/BCP là 17% cao hơn kết quả của chúng tôi [115]. Nghiên cứu của Phạm Thị Lệ Hoa tại thành phố Hồ Chí Minh (2010) trên 67 BN viêm gan vi rút B mạn nhận thấy tỷ lệ đột biến PC G1896A là 38,6% trong đó BN

HBeAg âm tính là 61,8% và HBeAg dương tính là 27,3%, BCP A1762T là 50,8% và G1764A là 43,3% [6].

Hiện nay mặc dù xét nghiệm kiểu gen của HBV chưa được đưa vào thực tiễn lâm sàng rộng rãi nhưng vẫn có những giá trị nhất định. Bên cạnh đó xét nghiệm đột biến HBV rất quan trọng giúp chúng ta xác định các loại đột biến như đột biến PC/BCP làm giảm sản xuất HBeAg hay đột biến kháng thuốc. Mặt khác các nghiên cứu của nhiều tác giả cho thấy tỷ lệ đột biến BCP có liên quan đến kiểu gen của HBV [124],[127],[163]. Nhìn chung ở những BN nhiễm kiểu gen A và C có tỷ lệ cao đột biến BCP hơn so với BN nhiễm kiểu gen B và D. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy đột biến PC G1896A ở kiểu gen B chiếm tỷ lệ 37,5% cao hơn có ý nghĩa so với kiểu gen C với 9,4% ($p=0,003$) nhưng đột biến PC G1899A không có sự khác biệt giữa kiểu gen B và C ($p=0,78$) (hình 3.4). Tỷ lệ đột biến BCP ở kiểu gen C cao hơn có ý nghĩa so với kiểu gen B như đột biến BCP A1762T ở kiểu gen C là 76,7% và kiểu gen B là 36,8% ($p=0,000$), BCP G1764A kiểu gen C là 80,7% cao hơn kiểu gen B là 30,2% ($p=0,000$) và tỷ lệ đột biến kép BCP A1762T/G1764A tương ứng là 76,7% so với 29,4% ($p=0,000$) (hình 3.4). Trong một nghiên cứu ở châu Á (2003), xác định tỷ lệ nhiễm kiểu gen B là 12% và C là 86,1% nhận thấy tải lượng HBV-ADN, tỷ lệ đột biến PC G1896A và BCP A1762T/G1764A khác nhau có ý nghĩa giữa kiểu gen B và C [139]. Nghiên cứu của Fung SK (Canada - 2006) tỷ lệ đột biến PC ở kiểu gen B cao hơn kiểu gen C và đột biến BCP ở kiểu gen C cao hơn kiểu gen B ($p<0,001$) [57]. Các nghiên cứu của các tác giả khác trên thế giới cũng nhận thấy tỷ lệ đột biến PC G1896A ở kiểu gen B cao hơn kiểu gen C và đột biến BCP A1762T/G1764A ở kiểu gen C cao hơn kiểu gen B [36],[37],[99],[115],[139],[168]. Nghiên cứu của Trần Thiện Tuấn Huy tại Việt Nam (2004) nhận thấy trong nhóm BN viêm gan vi rút B mạn có kiểu gen B, tỷ lệ đột biến BCP A1762T/G1764A là 33,3%, đột biến BCP A1762T là 10,2%. Khi xem xét sự liên quan giữa đột biến kép BCP A1762T/G1764A với kiểu gen, tác giả thấy tỷ lệ đột biến BCP A1762T/G1764A ở kiểu gen C cao hơn kiểu gen B (81% so với 33,3%, $p<0,001$), tỷ lệ đột biến PC G1896A ở kiểu gen B cao hơn kiểu gen C (58,9% so với 5,4%) [65].

Bên cạnh các đột biến PC G1896A, BCP A1762T/G1764A, các đột biến trong gen P của HBV làm thay đổi các vị trí gắn kết của các thuốc kháng vi rút với HBV và là cơ chế phân tử xuất hiện kháng thuốc. Những đột biến này có thể xuất hiện ở những chủng HBV chưa được điều trị thuốc kháng vi rút (chủng tự nhiên) gây khó khăn cho các thầy thuốc lựa chọn thuốc trước điều trị. Trong 121 BN nghiên cứu được giải trình tự gen P trước điều trị để xác định các đột biến kháng thuốc tự nhiên, kết quả chúng tôi không phát hiện các đột biến kháng thuốc với các loại thuốc kháng vi rút đang được sử dụng như đột biến M204V/I, I169T, V173L, L180M, A181T/V, T184G, S202I/G, N236T và M250V (bảng 3.12). Tuy nhiên nhiều nghiên cứu của các tác giả trên thế giới đã phát hiện những đột biến kháng thuốc ở những BN chưa điều trị thuốc kháng vi rút. Tác giả Singla B (2013) nghiên cứu 71 BN viêm gan vi rút B mạn chưa điều trị thuốc kháng vi rút phát hiện 1 BN có đột biến kháng ETV tại S202R và M250I, 2 BN có đột biến M204I, 2 BN có đột biến I233R và 1 BN có đột biến A181G [132]. Nghiên cứu của Mirandola tại Italia (2011) phát hiện 13 BN có đột biến kháng thuốc chiếm 5% trong đó 3 BN kiểu gen C có đột biến M204V + L180M, 4 BN có đột biến L233V và 3 BN có đột biến M250L/V [111]. Nhiều những nghiên cứu khác cũng phát hiện các đột biến kháng thuốc ở những BN chưa được điều trị [59],[69],[116]. Sự xuất hiện của các chủng HBV có các đột biến kháng thuốc trên những BN chưa điều trị có thể do BN bị lây nhiễm chủng HBV có kháng thuốc trước đó hoặc các đột biến xuất hiện trong quá trình tiến triển của bệnh. Như vậy trước khi điều trị BN viêm gan vi rút B mạn xét nghiệm xác định đột biến kháng thuốc là cần thiết nhưng đây là xét nghiệm chưa phổ biến trong thực hành lâm sàng tại Việt Nam.

4.2. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của viêm gan vi rút B mạn

Các triệu chứng lâm sàng của viêm gan vi rút B mạn thường nhẹ, không đặc hiệu và thường không điển hình. Nhiều BN khi phát hiện xơ gan hoặc HCC mà không có biểu hiện lâm sàng của quá trình bị bệnh gan trước đó. Do đó các triệu chứng lâm sàng có thể không tương quan với mức trầm trọng của tổn thương gan. Các biểu hiện lâm sàng thường là các triệu chứng cơ năng như mệt mỏi, chán ăn, các

dấu hiệu thực thể như vàng da, vàng mắt, gan to.... hay gặp ở những đợt cấp của viêm gan mạn hoặc khi xuất hiện xơ gan. Trên thực tế đại bộ phận BN viêm gan vi rút B mạn thường chưa được theo dõi và chú ý chăm sóc lâu dài tại nhà hoặc đi khám bệnh thường xuyên, chỉ khi nào có biểu hiện lâm sàng của những đợt cấp hoặc bệnh ở giai đoạn nặng mới đến bệnh viện khám và điều trị. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy hầu hết BN biểu hiện lâm sàng không điển hình với triệu chứng cơ năng như mệt mỏi (49%), chán ăn (36,1%), nước tiểu vàng (35,7%) và đầy bụng (26,2%). Các triệu chứng thực thể chiếm tỷ lệ thấp với các triệu chứng chính là xạm da (15,8%), vàng da vàng mắt (10,4%), sao mạch (9,9%), cổ chướng (3,5%)... (bảng 3.16). Tiến hành phân tích các triệu chứng lâm sàng của nhóm BN <40 tuổi và nhóm BN \geq 40 tuổi nhận thấy các triệu chứng lâm sàng ở trên BN \geq 40 tuổi cao hơn so với nhóm BN <40 tuổi ($p < 0,05$) (bảng 3.16). Kết quả này cũng phù hợp với kết quả tỷ lệ nhiễm HBV và thời gian nhiễm HBV vì khi tuổi càng cao thời gian nhiễm HBV có thể càng dài và do đó có thể triệu chứng lâm sàng sẽ rõ ràng hơn BN trẻ tuổi.

Mặc dù triệu chứng lâm sàng của BN trong nghiên cứu kín đáo, không điển hình nhưng kết quả xét nghiệm ALT rất có sự khác biệt với ALT tăng, cho thấy tổn thương viêm tế bào gan rầm rộ. Trong số 202 BN nghiên cứu có 83,2% số BN có ALT \geq 2 ULN trong đó có 22,8% số BN có biểu hiện bùng phát viêm gan cấp với ALT \geq 5 ULN và ALT trung bình là $150,7 \pm 121,7$ U/L với giá trị cao nhất là 650 U/L và thấp nhất là 33 U/L (bảng 3.18). Như vậy rất nhiều BN có biểu hiện hủy hoại tế bào gan và ALT tăng cao nhưng không có hoặc rất ít các triệu chứng lâm sàng. Kết quả ALT, AST huyết thanh của BN viêm gan phản ánh mức độ hủy hoại tế bào gan. ALT khu trú chủ yếu trong nguyên sinh chất tế bào gan còn AST khu trú trong ty lạp thể (chiếm tới 80%) nên khi xuất hiện tăng AST chứng tỏ tổn thương gan nghiêm trọng và kéo dài. Kết quả bảng 3.18 cũng nhận thấy AST trung bình là $104,9 \pm 96,8$ U/L và 55,5% BN có AST \geq 2 ULN trong đó 13,9% có AST \geq 5 ULN. Tác giả Chen C.H (2005) nghiên cứu 95 BN viêm gan vi rút B mạn nhận thấy ALT trung bình là $186,6 \pm 187,1$ U/L [37] và nghiên cứu của Yin J (2011) là $134,9 \pm 245,6$ U/L [171]. Tác giả Leung N (2009) phân tích 33 BN viêm gan vi rút B mạn

có HBeAg dương tính cũng nhận thấy ALT trung bình là 110,6 U/L và mức độ ALT <2 ULN cao hơn kết quả của chúng tôi chiếm tới 54% và chỉ có 36% ALT từ 2 -<5 ULN [92].

Albumin máu được tổng hợp trong nhu mô gan từ các axit amin ngoại lai hoặc sản sinh trong cơ thể có vai trò quan trọng trong việc điều hòa cân bằng thẩm thấu giữa máu và các tổ chức xung quanh. Gan là nơi tổng hợp albumin duy nhất với khoảng 12 - 15 g/ngày ở người lớn khỏe mạnh. Nồng độ albumin máu giảm trong bệnh gan cấp, bệnh gan mạn và xơ gan. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy nồng độ albumin máu trung bình là $41,4 \pm 5,3$ g/L, trong đó có 8,4% BN nồng độ albumin máu <34 g/L và BN có nồng độ albumin thấp nhất là 22,7 g/L (bảng 3.19). Tác giả Fung J (2011) nhận thấy trong 166 BN viêm gan vi rút B mạn với tuổi trung bình là 48 tuổi (thấp nhất 20 tuổi và cao nhất 77 tuổi), nam giới chiếm 76%, nồng độ albumin huyết thanh là 42g/L, bilirubin máu 14,5 mmol/L, ALT 92,5 U/L và AST là 59,5 U/L [56]. Nghiên cứu Xiao L (2011) trên 136 BN viêm gan vi rút B mạn cho kết quả ALT trung bình là 212 ± 300 U/L, AST trung bình là 141 ± 206 U/L cao hơn kết quả của chúng tôi và nồng độ albumin máu trung bình là $42,5 \pm 6,8$ g/L tương tự kết quả của chúng tôi [163]. Khác biệt với nồng độ albumin máu, số lượng tiểu cầu máu thường giảm khi BN có biểu hiện xơ gan. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy số lượng tiểu cầu máu giảm dưới $150 \times 10^9/L$ chiếm 32,5% và BN có số lượng tiểu cầu thấp nhất là $38 \times 10^9/L$ (bảng 3.21).

Gan là nơi tổng hợp ra α FP, sự tái sinh hoặc tăng sinh tế bào gan kèm theo sự tổng hợp α FP vì vậy nồng độ α FP phản ánh mức độ tái sinh và tăng sinh của tế bào gan. Trong HCC có sự tăng sinh quá mức làm cho nồng độ α FP cao nhất, còn trong viêm gan và xơ gan thì sự tái sinh và tăng sinh có mức độ nên nồng độ α FP thấp hơn. Kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ α FP trung bình là $26 \pm 72,7$ ng/ml trong đó có 65,1% có nồng độ α FP trong giới hạn bình thường (dưới 7 ng/ml), 21% có nồng độ α FP 7-<35 ng/ml (gấp 1 -<5 ULN) và 13,9% có nồng độ α FP ≥ 35 ng/ml (gấp ≥ 5 ULN) (bảng 3.20).

Như vậy dựa trên kết quả đã thu thập được có thể nói đa số BN viêm gan vi rút B mạn phát hiện mình bị nhiễm HBV muộn so với thời điểm bị nhiễm thực sự, bên cạnh đó biểu hiện lâm sàng kín đáo không tương xứng với tổn thương gan. Do đó chúng ta cần có những biện pháp can thiệp để sàng lọc, theo dõi định kỳ và tiến hành điều trị sớm cho BN viêm gan vi rút B mạn nhằm hạn chế các hậu quả của bệnh gây ra.

Cùng với tải lượng HBV-ADN, HBeAg là một trong những dấu ấn đánh giá sự nhân lên của HBV và liên quan đến mức độ nặng của bệnh. HBeAg là yếu tố làm tăng khả năng lây nhiễm của HBV. HBV sau khi xâm nhập vào tế bào gan, do sự nhận diện và đáp ứng của hệ thống miễn dịch, sẽ khởi động quá trình gây chết theo chương trình (apoptosis) cho các tế bào gan bị nhiễm HBV, để từ đó tiêu diệt và loại trừ HBV ra khỏi cơ thể. HBeAg có vai trò ức chế tác dụng bảo vệ của hệ thống miễn dịch đối với tế bào gan nhiễm HBV do HBeAg ngăn cản sự nhận biết của hệ miễn dịch với các tế bào gan có HBV. Từ đó ngăn cản quá trình chết theo chương trình của các tế bào gan có nhiễm HBV, dẫn đến HBV dễ dàng sản sinh và lan truyền trong cơ thể và làm tăng khả năng lan truyền HBV từ người này sang người khác, đặc biệt làm tăng sự lan truyền HBV từ mẹ sang con. Anti-HBe là kháng thể xuất hiện khi HBeAg mất đi nhưng thường có một khoảng thời gian ngắn tồn tại cùng lúc 2 dấu ấn này. Kết quả biểu đồ 3.11 nhận thấy tỷ lệ BN HBeAg dương tính là 57,4% kết quả này cũng tương tự như tác giả Utama A (2011) với tỷ lệ HBeAg dương tính là 56,5% [152] nhưng cao hơn tác giả Nguyen LH (2009) tỷ lệ HBeAg dương tính là 36% [115]. Khi phân tích tình trạng anti-HBe theo HBeAg tác giả Utama A (2011) nhận thấy tỷ lệ BN có HBeAg dương tính/anti-HBe âm tính là 56,5%; tỷ lệ HBeAg âm tính/anti-HBe dương tính là 34,4% [152] thấp hơn kết quả của chúng tôi với tỷ lệ tương ứng là 90,5% và 96,5% (biểu đồ 3.11).

Trong những năm gần đây các tác giả nhận thấy kiểu gen của HBV có thể ảnh hưởng đến đáp ứng tế bào, cơ chế gây ung thư và ảnh hưởng của cùng loại đột biến ở những kiểu gen khác nhau. Mặc dù diễn biến lâm sàng của viêm gan vi rút B mạn bao gồm sự tác động giữa vi rút, cơ thể con người và các yếu tố bên ngoài, những

nghiên cứu so sánh đã cho thấy có sự khác biệt về diễn biến lâm sàng ở những kiểu gen khác nhau trong những cộng đồng dân cư [72]. Tuy nhiên sự phân bố khác nhau về địa lý của kiểu gen HBV nên các nghiên cứu so sánh tin cậy về lâm sàng và đột biến chỉ có thể thực hiện trong quần thể có 2 kiểu gen khác nhau.

Diễn biến lâm sàng của nhiễm HBV phụ thuộc vào tuổi của BN, đáp ứng miễn dịch của cơ thể và các chủng vi rút bị nhiễm đặc biệt kiểu gen của HBV. Trong số 121 BN xác định kiểu gen HBV có 89 BN kiểu gen B (73,6%) và 32 BN kiểu gen C (26,4%) (hình 3.1). Phân tích các đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của BN viêm gan vi rút B mạn theo kiểu gen, kết quả của chúng tôi nhận thấy tuổi trung bình của BN nhiễm kiểu gen B là $38,3 \pm 13$ (tuổi) thấp hơn kiểu gen C là $44,4 \pm 12,5$ (tuổi) ($p=0,02$) (bảng 3.13) và tỷ lệ nam giới ở kiểu gen B là 65,2% và kiểu gen C là 59,4% ($p=0,56$) (biểu đồ 3.3). Khi so sánh tuổi trung bình của BN nhiễm kiểu gen B và C, tác giả Nguyen LH (2009) cũng nhận thấy trên những BN Hoa Kỳ di cư từ Việt Nam và Trung Quốc tuổi của BN nhiễm kiểu gen B là 46 ± 14 (tuổi) cao hơn kiểu gen C là 43 ± 12 (tuổi) ($p=0,03$) [115] cũng như 1 số tác giả khác như Orito E (Nhật Bản - 2001) ($p<0,01$) [120]. Tuy nhiên 1 số tác giả nghiên cứu tại Trung Quốc [48],[57],[165] và Hồng Kông [42] không thấy có sự khác biệt về tuổi giữa 2 kiểu gen B và C. Các tác giả cũng nhận thấy không có sự khác biệt về giới tính ở những BN nhiễm kiểu gen B và C [42],[48],[57],[115],[119],[120],[165]. Kết quả của chúng tôi cũng nhận thấy không có sự khác biệt về triệu chứng lâm sàng giữa BN nhiễm kiểu gen B và C ($p>0,05$) (bảng 3.17). Tương tự các xét nghiệm sinh hóa như ALT trung bình, phân loại ALT (biểu đồ 3.9), AST trung bình, phân loại AST (biểu đồ 3.10), nồng độ albumin, bilirubin toàn phần (bảng 3.19) và α FP máu không có sự khác biệt giữa BN nhiễm kiểu gen B và C (bảng 3.20). Kết quả xét nghiệm tỷ lệ prothrombin, fibrinogen và phân loại số lượng tiểu cầu cũng không có sự khác biệt giữa BN nhiễm kiểu gen B và C nhưng số lượng tiểu cầu trung bình của BN nhiễm kiểu gen C thấp hơn kiểu gen B ($p<0,05$) (bảng 3.21). Kết quả này cũng tương tự như 1 số tác giả trên thế giới như tác giả Orito E (Nhật Bản - 2001) không thấy có sự khác biệt về tình trạng bệnh, bilirubin toàn phần, AST và ALT giữa 2

kiểu gen B và C [120] hay tác giả Du H (Trung Quốc - 2007) không có sự khác biệt về ALT, AST và bilirubin toàn phần giữa kiểu gen B và C [48]. Nhưng tác giả Xibing G (2012) nghiên cứu 150 BN viêm gan vi rút B mạn tại Trung Quốc nhận thấy ALT và bilirubin toàn phần ở BN nhiễm kiểu gen C cao hơn kiểu gen B ($p < 0,01$) [165]. Kết quả nghiên cứu của Qin Y (2009) cũng nhận thấy không có sự khác biệt về giới tính, ALT, tải lượng HBV-ADN giữa kiểu gen B và C, đặc biệt tuổi của BN cũng tương tự kết quả của chúng tôi ở BN nhiễm kiểu gen C cao hơn kiểu gen B ($p = 0,0002$) [124].

So sánh tình trạng HBeAg và anti-HBe với kiểu gen của HBV không thấy có sự khác biệt về tình trạng HBeAg dương tính, anti-HBe dương tính giữa kiểu gen B và C ($p > 0,05$) (biểu đồ 3.12). Kết quả nghiên cứu của Du H (Trung Quốc - 2007) nhận thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ HBeAg dương tính giữa kiểu gen B và C [48]. Tại Nhật Bản kiểu gen B và C chiếm ưu thế so với các nước châu Á khác nhưng >90% những người lành mang HBV mạn có kiểu gen C. Trong nhóm BN <30 tuổi, phần lớn các BN viêm gan vi rút B mạn có HBeAg dương tính và tỷ lệ HBeAg dương tính không khác biệt đáng kể giữa các BN nhiễm kiểu gen B và C. HBeAg thường không được phát hiện trong phần lớn các BN bị nhiễm kiểu gen B và C ở nhóm BN >30 tuổi, trong số đó hầu hết BN nhiễm kiểu gen C có HBeAg dương tính trong nhóm tuổi >30 tuổi [78]. Một số nghiên cứu khác như Sumi H (2003) nhận thấy rằng tỷ lệ HBeAg dương tính ở BN nhiễm kiểu gen C cao hơn so với kiểu gen B (43,3% ở kiểu gen B so với 71% ở kiểu gen C với $p < 0,01$) [139], tác giả Fung SK (Canada - 2006) tỷ lệ HBeAg dương tính ở kiểu gen B là 37% thấp hơn kiểu gen C là 59% ($p = 0,01$) [57] và Nguyen LH (2009) tỷ lệ HBeAg âm tính ở kiểu gen B là 71% cao hơn kiểu gen C là 47% ($p < 0,001$) [115].

Như vậy sự phân bố về tuổi, giới, triệu chứng lâm sàng cũng như các xét nghiệm cận lâm sàng như AST, ALT, albumin máu, bilirubin toàn phần, α FP, tiểu cầu máu, tỷ lệ prothrombin máu, fibrinogen, tải lượng HBV-ADN, tình trạng HBeAg và anti-HBe không có sự khác biệt giữa BN nhiễm kiểu gen B và kiểu gen C. Tuy nhiên có 1 số đặc điểm về xét nghiệm sinh học phân tử của HBV có sự khác biệt giữa kiểu gen B

và C như tỷ lệ đột biến PC G1896A kiểu gen B cao hơn kiểu gen C và ngược lại đột biến BCP A1762T/G1764A ở kiểu gen C cao hơn kiểu gen B.

Lứa tuổi nhiễm HBV có tác động lớn đến tiến triển lâm sàng, nguy cơ bệnh tiến triển thành mạn tính tùy theo tuổi bị nhiễm như nhiễm HBV xảy ra ở trẻ sơ sinh có trên 90% người nhiễm tiến triển thành mạn tính, từ 1 - 5 tuổi có 25 - 50% thành mạn tính và nhiễm khi trưởng thành chỉ có 5% chuyển thành mạn tính [94]. Kết quả nghiên cứu trên 202 BN viêm gan vi rút B mạn nhận thấy có sự thay đổi về các xét nghiệm sinh hóa, huyết học, vi rút học và sinh học phân tử theo từng nhóm tuổi. Trong nghiên cứu này chúng tôi chia tuổi của BN thành 5 nhóm với kết quả tỷ lệ như sau: nhóm <30 tuổi là 28,7%; 30 -<40 tuổi là 23,8%; 40 -<50 tuổi là 20,8%; 50 -<60 là 16,8% và ≥ 60 tuổi là 9,9% (bảng 3.1). Như vậy tỷ lệ BN <40 tuổi chiếm 52,5% và ≥ 40 tuổi là 47,5% (bảng 3.1). Kết quả xét nghiệm ALT trung bình giảm dần theo từng nhóm tuổi với $159,9 \pm 104,6$ U/L ở nhóm tuổi < 30 tuổi và chỉ còn $108,1 \pm 84,2$ U/L khi ≥ 60 tuổi ($p=0,0007$) (biểu đồ 3.13). Tương tự như ALT chúng tôi nhận thấy nồng độ albumin máu (biểu đồ 3.15), số lượng tiểu cầu máu giảm dần khi tuổi của BN tăng (biểu đồ 3.18). Kết quả này cho thấy khi tuổi của BN tăng, cũng đồng nghĩa với thời gian nhiễm HBV kéo dài hơn, như vậy tổn thương gan nhiều hơn và nhiều BN có thể tiến triển đến xơ gan. Với những đặc điểm vi rút học, chúng tôi phân tích tình trạng HBeAg, anti-HBe và tải lượng HBV-ADN theo các nhóm tuổi chúng tôi nhận thấy tỷ lệ HBeAg dương tính giảm dần khi tuổi BN tăng với nhóm tuổi <30 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất (93,1%), sau đó tỷ lệ HBeAg dương tính giảm dần theo mức độ tăng của tuổi và ở nhóm BN ≥ 60 tuổi tỷ lệ HBeAg dương tính chỉ còn 15%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p=0,000$) (biểu đồ 3.21). Tương tự tải lượng HBV-ADN cũng giảm dần theo tuổi. Kết quả biểu đồ 3.4 cho thấy tải lượng HBV-ADN của BN từ <30 tuổi là $7,4 \pm 0,8 \log_{10}$ IU/ml cao hơn so với tải lượng HBV-ADN ở các lứa tuổi khác như từ 30 -<40 tuổi là $6,5 \pm 1,6 \log_{10}$ IU/ml ($p=0,0001$). Ngược lại tỷ lệ anti-HBe dương tính tăng cùng với tuổi với tỷ lệ anti-HBe dương tính là 10,3% ở nhóm BN <30 tuổi và tỷ lệ tăng dần tới 90% BN có anti-HBe dương tính ở nhóm BN ≥ 60 tuổi (biểu đồ 3.21). Như vậy theo thời gian, sự chuyển đảo huyết thanh HBeAg tự nhiên diễn ra làm cho tỷ lệ HBeAg

dương tính và anti-HBe dương tính thay đổi theo tuổi cùng với sự ức chế sự nhân lên của vi rút. Như vậy khi phân tích theo nhóm tuổi cho thấy ALT và tải lượng HBV-ADN cao hơn ở những BN trẻ tuổi, giảm dần ở các nhóm tuổi cao hơn, hiện tượng chuyển đảo huyết thanh HBeAg âm tính/anti HBe dương tính tăng lên ở các nhóm tuổi cao. Sự khác biệt về tuổi ở những BN trong nghiên cứu này là sự khác biệt về thời gian nhiễm HBV, tuổi càng cao thời gian nhiễm HBV có thể càng dài vì đa số BN có thể lây nhiễm HBV trong thời kỳ sơ sinh từ mẹ, lây truyền mẹ con là đường lây chính ở những khu vực có tỷ lệ nhiễm HBV cao như Việt Nam [88].

Cùng với sự chuyển đảo tự nhiên của cơ thể, quá trình vi rút nhân lên trong cơ thể người bệnh theo thời gian sẽ xuất hiện các biến chủng HBV như đột biến PC/BCP. Các HBV biến chủng với đột biến trong vùng gen PC/BCP được quan tâm nghiên cứu do có liên quan tới quá trình nhân lên của HBV. Đột biến PC G1986A và BCP A1762T/G1764A đã được chứng minh giảm hoặc dừng việc tổng hợp kháng nguyên HBeAg. Trong giai đoạn dung nạp miễn dịch sau nhiễm HBV các vùng gen này ít biến đổi và các đột biến PC G1896A/BCP A1762T/G1764A sẽ tăng dần trong giai đoạn thanh thải miễn dịch giúp vi rút thoát khỏi đáp ứng miễn dịch [36]. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ đột biến PC/BCP với các đột biến PC G1896A, BCP A1762T/G1764A tăng lên theo tỷ lệ thuận với tuổi của BN ($p < 0,05$) (hình 3.5). Kết quả biểu đồ 3.5 cũng cho thấy tuổi của BN nhiễm chủng HBV tự nhiên (không có đột biến PC/BCP) thấp hơn tuổi BN nhiễm các chủng HBV có đột biến PC/BCP ($p < 0,000$) và khi phân tích hồi quy logistic đơn biến có mối liên quan giữa đột biến PC/BCP với tuổi BN (OR=1,08; 95%CI: 1,04 - 1,13 và $p = 0,000$). Tỷ lệ nam và nữ không có sự khác biệt giữa BN có đột biến PC/BCP và BN nhiễm chủng HBV tự nhiên ($p > 0,05$) cũng như không có mối liên quan giữa đột biến PC/BCP với nam giới (OR=1,1; 95%CI: 0,49 - 2,47 và $p = 0,81$) (biểu đồ 3.6). Nghiên cứu tại Đài Loan tác giả Chen C.H (2005) nhận thấy rằng BN viêm gan vi rút B mạn có đột biến PC G1896A, BCP A1762T/G1764A có tuổi cao hơn BN nhiễm chủng HBV tự nhiên ($p < 0,05$) và cũng không có sự khác biệt giữa chủng tự nhiên và chủng đột biến PC/BCP về giới tính [37]. Tác giả Vutien P (2013) lại nhận

thấy tỷ lệ đột biến PC (kiểu gen B) hoặc BCP (kiểu gen B và C) ở lứa tuổi ≥ 40 tuổi cao hơn lứa tuổi < 40 tuổi ($p < 0,01$) [154].

Các nghiên cứu cho thấy tần số đột biến PC/BCP có mối tương quan với kiểu gen của HBV. Trên BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính tỷ lệ đột biến PC G1896A thường xuất hiện ở kiểu gen B so với kiểu gen C (38,5% so với 11,3%). Mặt khác đột biến PC G1896A có tỷ lệ tương tự ở kiểu gen B và C với BN HBeAg âm tính (64,7% với 70,8%) [139]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy tỷ lệ BN chỉ có đột biến PC ở nhóm BN HBeAg âm tính là 24,1% cao hơn HBeAg dương tính là 15%; tỷ lệ phối hợp đột biến PC/BCP của BN HBeAg âm tính cao hơn so với BN HBeAg dương tính với 34,5% so với 1,7%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p = 0,000$) (biểu đồ 3.22). Khi phân tích hồi quy logistic đơn biến có mối liên quan giữa đột biến PC/BCP với tình trạng HBeAg (OR=0,18; 95%CI: 0,07 - 0,45 và $p = 0,000$) (biểu đồ 3.22). Kết quả nghiên cứu của Vutien P (2013) trên 828 BN tại Hoa Kỳ gốc châu Á nhận thấy với BN HBeAg dương tính tỷ lệ đột biến PC là 17%, đột biến BCP là 28% và phối hợp PC/BCP là 5%, với BN HBeAg âm tính tỷ lệ đột biến PC là 45%, đột biến BCP là 19% và phối hợp PC/BCP là 28% [154]. Tác giả Utama A (Indonexia - 2011) cũng nhận thấy tỷ lệ đột biến PC G1896A ở BN HBeAg âm tính cao hơn nhóm HBeAg dương tính (tương ứng 70,7% so với 0% với $p < 0,001$) và đột biến BCP A1762T/G1764A ở nhóm HBeAg dương tính là 40,8% thấp hơn nhóm BN HBeAg âm tính là 55,6% tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,054$ [152]. Tác giả Chauhan R (Ấn Độ - 2006) nhận thấy tỷ lệ đột biến BCP A1762T/G1764A là 36% ở nhóm BN HBeAg âm tính cao hơn nhóm BN HBeAg dương tính là 10% ($p = 0,014$) và tỷ lệ đột biến PC G1896A ở nhóm BN HBeAg âm tính cao hơn nhóm HBeAg dương tính tương ứng 33% so với 2% ($p < 0,01$) [32]. Kết quả nghiên cứu của Tseng TC (2009) tại Đài Loan trên 116 BN viêm gan vi rút B mạn có HBeAg dương tính nhận thấy tỷ lệ đột biến PC G1896A là 22,4% và đột biến BCP A1762T/G1764A là 21,6% [149]. Nghiên cứu tác giả Choi JW (Hàn Quốc - 2009) nhận thấy tỷ lệ đột biến BCP A1762T/G1764A ở BN HBeAg âm tính cao hơn BN HBeAg dương tính và cao hơn kết quả của

chúng tôi tương ứng là 92,5% so với 81,4% [40]. Khi phân tích mối liên quan giữa đột biến PC/BCP với tình trạng HBeAg trên từng kiểu gen chúng tôi nhận thấy đối với kiểu gen B có tới 59,1% BN ở nhóm HBeAg dương tính không có các đột biến PC/BCP (chủng tự nhiên) trong khi đó nhóm HBeAg âm tính chỉ có 14,6% chủng tự nhiên (biểu đồ 3.23). Cũng ở những BN kiểu gen B tỷ lệ đột biến PC ở BN HBeAg âm tính cao hơn HBeAg dương tính (31,7% so với 18,2%) với $p=0,000$ (biểu đồ 3.23). Nhưng với kiểu gen C không thấy có sự khác biệt tỷ lệ đột biến PC, BCP giữa 2 nhóm BN HBeAg dương tính và HBeAg âm tính ($p=0,53$) (bảng 3.22). Tiến hành phân tích hồi quy logistic đơn biến có mối liên quan giữa đột biến PC/BCP với tình trạng HBeAg ở BN nhiễm kiểu gen B ($OR=0,12$; 95%CI: 0,04 - 0,34 và $p=0,000$) nhưng lại không có mối liên quan ở BN nhiễm kiểu gen C ($OR=0,5$; 95%: 0,04 - 6,22 và $p=0,59$) (biểu đồ 3.23 và bảng 3.22). Kết quả nghiên cứu của Vutien P (2013) cũng nhận thấy BN nhiễm kiểu gen B tỷ lệ đột biến PC cao hơn BCP, trong đó BN có HBeAg âm tính tỷ lệ đột biến PC là 85% và BCP là 37% cao hơn BN HBeAg dương tính (tương ứng là 34% và 14%) ($p<0,001$) [154]. Nhưng đối với kiểu gen C tỷ lệ đột biến BCP cao hơn PC và BN có HBeAg âm tính tỷ lệ đột biến PC/BCP cao hơn BN có HBeAg dương tính với $p=0,001$ [154]. Như vậy tình trạng HBeAg và anti-HBe có mối tương quan với các đột biến PC/BCP.

Kết quả biểu đồ 3.8 chúng tôi nhận thấy tải lượng HBV-ADN ở chủng HBV tự nhiên có nồng độ cao hơn so với chủng đột biến PC, BCP và phối hợp PC/BCP ($7,2 \pm 1,5 \log_{10}IU/ml$ so với $6,4 \pm 1,4 \log_{10}IU/ml$, $6 \pm 1,5 \log_{10}IU/ml$ và $5,4 \pm 1,4 \log_{10}IU/ml$), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p=0,0002$). Kết quả này cũng tương tự như của Xiao L (Trung Quốc - 2011) trên 136 BN viêm gan vi rút B mạn ($p<0,001$) [163]. Tiến hành phân tích hồi quy logistic đơn biến có mối liên quan giữa tải lượng HBV-ADN với đột biến PC/BCP ($OR=0,58$; 95%CI: 0,42 - 0,79 và $p=0,001$) (biểu đồ 3.8). Đối với BN có HBeAg dương tính tải lượng HBV-ADN ở BN nhiễm chủng HBV tự nhiên cao hơn BN có đột biến PC, BCP và phối hợp PC/BCP, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p=0,09$) (bảng 3.15). Tuy nhiên khi tiến hành phân tích đơn biến mối liên quan giữa đột biến PC/BCP với tải

lượng HBV-ADN có mối liên quan ở những BN có HBeAg dương tính này (OR=0,57; 95%CI: 0,35 - 0,95 và p=0,03) (bảng 3.15). Tác giả Vutien P (2013) nhận thấy tải lượng HBV-ADN ở BN HBeAg dương tính có đột biến BCP thấp hơn BN không có đột biến BCP (tương ứng là 6,1 log₁₀IU/ml so với 7,7 log₁₀IU/ml) với p<0,001 và BN có đột biến PC cũng thấp hơn BN không có đột biến PC (6,5 log₁₀IU/ml so với 7,4 log₁₀IU/ml) với p=0,05 [154]. Nhưng với BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg âm tính tải lượng HBV-ADN không có sự khác biệt giữa các BN nhiễm chủng HBV tự nhiên, đột biến PC, BCP và phối hợp PC/BCP (p=0,97), cũng không có mối liên quan giữa tải lượng HBV-ADN với đột biến PC/BCP (OR=0,94; 95%CI: 0,55 - 1,61 và p=0,82) (bảng 3.15). Tác giả Utama A (Indonexia - 2011) cũng nhận thấy ở nhóm BN HBeAg âm tính tải lượng HBV-ADN không có mối liên quan với các đột biến PC G1896A (p=0,231), đột biến BCP A1762T/G1764A (p=0,095) nhưng ở nhóm BN HBeAg dương tính đột biến BCP A1762T/G1764A có liên quan đến tải lượng HBV-ADN thấp tức là tải lượng HBV-ADN ở BN có đột biến thấp hơn BN không có đột biến BCP A1762T/G1764A (p<0,001) [152]. Đột biến PC G1899A không có liên quan đến tải lượng HBV-ADN hay tải lượng HBV-ADN ở nhóm có đột biến PC G1899A thấp hơn nhóm BN không có đột biến này nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p=0,609) [152]. Bên cạnh đó tác giả cũng nhận thấy không có mối liên quan giữa nồng độ ALT và đột biến PC/BCP ở cả 2 nhóm BN HBeAg dương tính và HBeAg âm tính [152]. Phân tích mối liên quan giữa nồng độ ALT với đột biến PC/BCP nhận thấy nồng độ ALT ở BN nhiễm chủng HBV tự nhiên, đột biến PC, đột biến BCP và phối hợp đột biến PC/BCP không có sự khác biệt (p>0,05) và không có mối liên quan (OR=1 và p>0,05) (biểu đồ 3.24 và bảng 3.23). Nghiên cứu của Choi JW (Hàn Quốc - 2009) lại nhận thấy ALT ở BN HBeAg âm tính có đột biến PC G1896A cao hơn so với BN không có đột biến (93,3 ± 134,2 so với 51,6 ± 82 (U/L) với p=0,014) và BN có đột biến BCP A1762T/G1764A thấp hơn so với BN không có đột biến này (60,4 ± 90,9 so với 122,3 ± 197,4 (U/L) với p=0,204) [40]. Nhưng với tải lượng HBV-ADN tác giả Choi JW cũng thấy ở BN có đột biến BCP tải lượng HBV-ADN thấp hơn BN không

có đột biến BCP, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p=0,455$) và BN có đột biến PC G1986A cao hơn chủng tự nhiên ($p=0,026$) [40].

4.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị thuốc kháng vi rút

Viêm gan vi rút B mạn là bệnh do HBV gây ra, bệnh kéo dài nhiều năm, bệnh để lại nhiều hậu quả nghiêm trọng như xơ gan và HCC. Các biện pháp điều trị nhằm ức chế sự nhân lên của HBV đã hạn chế được các hậu quả của bệnh gây ra. Hiện nay có 2 chiến lược điều trị khác nhau cho cả viêm gan vi rút B mạn HBeAg dương tính và HBeAg âm tính đó là điều trị có thời hạn với thuốc IFN/PegIFN và điều trị kéo dài với các thuốc loại NA. Trong 5 loại thuốc NA được FDA công nhận, ETV và TDF là thuốc có tỷ lệ kháng thuốc thấp, có hàng rào di truyền kháng thuốc cao vì thế được lựa chọn đầu tiên trong điều trị viêm gan vi rút B mạn hiện nay. Mặt khác đáp ứng điều trị của BN với các thuốc kháng vi rút thay đổi tùy theo từng loại thuốc, cơ địa người bệnh và các yếu tố của chính HBV. Mặc dù ETV và TDF có nguy cơ kháng thuốc thấp với những BN chưa được điều trị nhưng vẫn còn những khó khăn do có hiện tượng vi rút kháng chéo và thực tế các đột biến kháng thuốc có thể tồn tại trong quần thể HBV ở những BN chưa điều trị thuốc kháng vi rút. Hơn nữa hiện tượng đa kháng đã xảy ra trong điều trị 1 loại thuốc liên tục với các thuốc có hàng rào di truyền thấp đã trở thành vấn đề nghiêm trọng trên thế giới cũng như tại Việt Nam. Do đó đánh giá sự xuất hiện của các đột biến kháng thuốc ở những BN chưa điều trị giúp cho các thầy thuốc lựa chọn thuốc phù hợp. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy trước khi điều trị ETV hoặc TDF, BN được giải trình tự gen để xác định các đột biến kháng thuốc tự nhiên với các thuốc kháng vi rút. Trong 110 BN theo dõi điều trị trong thời gian 12 tháng và tuân thủ điều trị được giải trình tự gen polymerase xác định các đột biến kháng thuốc trước khi điều trị thuốc kháng vi rút, kết quả trên những BN này không có những đột biến kháng thuốc với các thuốc kháng vi rút như đột biến M204I/V, I169T, L180M, V173L, A181T/V, M250V, T184G, S202I/G và N236T (bảng 3.12). Tuy nhiên các nghiên cứu của các tác giả trên thế giới đã phát hiện được những đột biến kháng thuốc ở BN chưa được điều trị thuốc kháng vi rút như nghiên cứu của Mirandola tại Italia

trên 255 BN tỷ lệ đột biến kháng thuốc tự nhiên là 5% [111], nghiên cứu của Mahabadi M (2012) tại Iran trên 325 BN tỷ lệ đột biến YMDD là 4%, M204V/I + L180M là 2,45% và M204V là 2,76% [108].

Mục tiêu điều trị trong bệnh viêm gan vi rút B mạn là cải thiện chất lượng cuộc sống và cứu sống người bệnh bằng cách ngăn cản sự tiến triển của bệnh tới xơ gan, xơ gan mất bù, bệnh gan giai đoạn cuối, HCC và tử vong. Mục tiêu cụ thể điều trị viêm gan vi rút B mạn bao gồm bình thường ALT, giảm hay mất HBV-ADN, chuyển đảo huyết thanh ở những BN có HBeAg dương tính, cải thiện mô học của tế bào gan và cuối cùng là chuyển đảo huyết thanh HBsAg. Những mục tiêu này có thể đạt được nếu quá trình nhân lên của HBV bị ức chế bền vững. Sự ức chế nhân lên HBV bền vững sẽ làm cải thiện mô học của tế bào gan, giảm nguy cơ xơ gan và HCC đặc biệt ở những BN không có xơ gan.

ETV là dẫn xuất carbocyclic 2-deoxyguanosin, ức chế chọn lọc môi, ức chế tổng hợp ADN và ức chế sao chép ngược HBV polymerase. ETV ức chế cả 3 giai đoạn trong chu trình nhân lên của HBV và có tác dụng ức chế vi rút mạnh hơn so với LMV và ADV. ETV có hiệu quả điều trị viêm gan vi rút B mạn với cả thể HBeAg dương tính và HBeAg âm tính. TDF là dẫn chất nucleotit, có hiệu quả với cả HIV và HBV. Thuốc có tác dụng ức chế polymerase và có cấu trúc tương tự như ADV, thuốc làm giảm HBV-ADN nhanh, ổn định hơn so với LMV và ADV.

Để đánh giá hiệu quả điều trị của ETV và TDF chúng tôi tiến hành theo dõi và phân tích 110 BN viêm gan vi rút B mạn có tuân thủ điều trị (gồm 58 BN điều trị ETV và 52 BN điều trị TDF) trong thời gian 12 tháng. Kết quả đáp ứng sinh hóa (ALT trở về bình thường) ở nhóm điều trị ETV là 72,4% và với nhóm điều trị TDF là 63,5% (biểu đồ 3.25). Nhưng tác giả Yao GB. (Trung Quốc - 2010) nhận thấy tỷ lệ đáp ứng sinh hóa sau 48 tuần điều trị với ETV là 90% [169], tương tự tác giả Chon YE (2011) là 85,7% [41] và Zoutendijk R (2011) là 74% [180]. Nghiên cứu tác giả Lin B (2013), kết quả đáp ứng sinh hóa với điều trị ETV là 76,8% và TDF là 82,6% [96].

Chuyển đảo huyết thanh HBeAg ở những BN HBeAg dương tính cũng là 1 trong những tiêu chí đánh giá hiệu quả điều trị. Kết quả biểu đồ 3.25 nhận thấy trong 54 BN HBeAg dương tính có 28 BN được điều trị ETV và 26 BN được điều trị TDF, kết quả chuyển đảo huyết thanh HBeAg sau 12 tháng điều trị ETV là 21,4% và TDF là 23,1%. Các tác giả trên thế giới cũng nhận thấy tỷ lệ chuyển đảo huyết thanh HBeAg sau 12 tháng điều trị ETV dao động từ 15 - 23% như Yuen MF (2011) là 22,2% [177], Chang TT (2006) là 21% [31], Yao GB (2010) là 15% [169], Zoutendijk R (2011) là 15% [180], Ren là 18% [126] nhưng kết quả của tác giả Chon YE (2011) tỷ lệ này chỉ 13,2% [41]. Tỷ lệ chuyển đảo huyết thanh HBeAg trong nghiên cứu của Marcellin (2008) sau 12 tháng điều trị TDF là 21% [109]. Nghiên cứu của Lee MH (2011) kết quả sau 1 năm điều trị ETV tỷ lệ chuyển đảo huyết thanh HBeAg ở những BN HBeAg dương tính là 15,3% [91].

Các nghiên cứu của các tác giả trên thế giới đều nhận thấy rằng ETV và TDF có hiệu quả trong điều trị viêm gan vi rút B mạn. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy tỷ lệ đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị ETV là 58,6% và TDF là 48,1% (biểu đồ 3.25). Nhiều nghiên cứu của các tác giả trên thế giới đánh giá hiệu quả điều trị thuốc ETV và TDF ở những thời điểm khác nhau và có những kết quả điều trị khác nhau. Nghiên cứu của Dogan UB (Thổ Nhĩ Kỳ - 2012) đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị ETV là 69% và TDF là 72,3% [46]. Tác giả Chon YE (2011) khi đánh giá hiệu quả điều trị ETV trên BN viêm gan vi rút B mạn chưa điều trị thuốc kháng vi rút nhận thấy sau 12 tháng điều trị có 68,6% BN có đáp ứng vi rút [41].

Trong nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng giai đoạn 3 điều trị viêm gan vi rút B mạn bằng TDF hoặc ADV, theo dõi sau 12 tháng điều trị với BN HBeAg dương tính TDF có hiệu quả với tỷ lệ tải lượng HBV-ADN dưới ngưỡng phát hiện là 76% (ngưỡng phát hiện 400 bản sao/ml), ALT trở về bình thường là 68% và tỷ lệ chuyển đảo huyết thanh HBeAg là 21% [109]. Kết quả nghiên cứu của Baran B (Thổ Nhĩ Kỳ - 2011) trên 105 BN viêm gan vi rút B mạn chưa điều trị thuốc kháng vi rút được điều trị TDF nhận thấy đáp ứng vi rút sau điều trị 12 tháng ở BN HBeAg dương tính là 39% và BN HBeAg âm tính là 82%, tuy nhiên khi tác giả tiếp tục điều

trị 24 tháng tỷ lệ đáp ứng vi rút là 88% với BN HBeAg âm tính và 61% với HBeAg dương tính, sau 36 tháng điều trị tỷ lệ tương ứng là 94% và 67% [21]. Tuy nhiên nghiên cứu của Ahn SS (Hàn Quốc - 2014) trên 120 BN viêm gan vi rút B mạn điều trị TDF sau 12 tháng nhận thấy tỷ lệ đáp ứng vi rút là 83,3%, đáp ứng sinh hóa là 88,2% [16]. Ceylan B (2013) nhận thấy tỷ lệ đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị TDF là 80,8% [28]

Tại Việt Nam nghiên cứu của tác giả Nguyễn Mạnh Đức (2008) điều trị thuốc ETV cho 51 BN viêm gan vi rút B mạn chưa được điều trị thuốc kháng vi rút nhận thấy sau điều trị 12 tháng tỷ lệ đáp ứng vi rút là 74,5%, đáp ứng sinh hóa là 88,2% và chuyển đảo huyết thanh HBeAg là 26,7% [5]. Theo tác giả Mai Hồng Bằng (2008) tỷ lệ chuyển đảo huyết thanh HBeAg là 19,8% nhưng tỷ lệ đáp ứng của ETV sau điều trị 12 tháng chỉ là 55,6% [3]. Tác giả Đinh Dạ Lý Hương (2007) nghiên cứu 19 BN viêm gan vi rút B mạn HBeAg âm tính tỷ lệ đáp ứng vi rút là 94,7% [8]. Nghiên cứu của tác giả Trịnh Thị Ngọc (2011), kết quả điều trị 99 BN viêm gan vi rút B mạn bằng TDF sau 12 tháng nhận thấy tỷ lệ đáp ứng sinh hóa là 95,6% và đáp ứng vi rút là 85,1% [10].

Như vậy sử dụng ETV và TDF trong điều trị viêm gan vi rút B mạn có tác dụng ức chế HBV và ổn định chức năng gan hạn chế được các hậu quả của bệnh gây ra. Tuy nhiên tỷ lệ đáp ứng vi rút khác nhau tùy theo nghiên cứu, tình trạng BN và đặc biệt là tải lượng HBV-ADN trước điều trị. Trong quá trình điều trị sự xuất hiện của các biến chủng HBV kháng với các thuốc kháng vi rút loại NA hay được gọi là đột biến kháng thuốc đã được công nhận là nguyên nhân hàng đầu gây thất bại điều trị ở những BN viêm gan vi rút B mạn. Vì vậy xác định những đột biến này cho phép điều chỉnh kịp thời điều trị tránh bùng phát viêm gan. Mức độ xuất hiện của các đột biến kháng thuốc với các thuốc kháng vi rút là kết quả của 2 yếu tố là vi rút và cơ thể con người. Bên cạnh đó HBV có tỷ lệ nhân lên cao ước tính khoảng 10^{12} virion/ngày và tỷ lệ đột biến khoảng 10^{-5} đến 10^{-4} thay thế/chu kỳ nhân lên, do đó các đột biến xuất hiện nhanh chóng.

Kết quả của chúng tôi cho thấy sau điều trị 12 tháng tỷ lệ bùng phát vi rút là 8,2% (9 BN) trong đó 6,9% (4 BN) với điều trị ETV và 9,6% (5 BN) với điều trị TDF (biểu đồ 3.26). Tiến hành giải trình tự gen P để xác định đột biến kháng thuốc trên những BN này, kết quả không phát hiện được những đột biến kháng thuốc với các thuốc ETV và TDF như đột biến M204I/V, A181T/V, N236T, M250V, I169T, V173L, L180M, T184G, S202I/G (bảng 3.24). Kháng thuốc là một hạn chế lớn cho hiệu quả điều trị lâu dài của điều trị thuốc kháng vi rút loại NA trong điều trị viêm gan vi rút B mạn. ETV là thuốc có hàng rào di truyền kháng thuốc cao, kháng thuốc ETV xảy ra khi có cùng 3 đột biến bao gồm L180M, M204V/I có thể phối hợp với 1 trong những đột biến sau T184S/G, S202I/G hoặc M250V. Nghiên cứu của các tác giả Nhật Bản và Hồng Kông ghi nhận tỷ lệ HBV kháng ETV sau 2 - 3 năm điều trị từ 0,8 - 3,3% [56],[172]. Tenney DJ và cộng sự (2009) nhận thấy tỷ lệ cộng đòn kháng ETV sau 5 năm điều trị là 1,2% [143]. Trong một nghiên cứu tại Trung Quốc (2013), Luo J. nhận thấy trên 230 BN viêm gan vi rút B mạn điều trị ETV trong 12 tháng chỉ có 1 BN kháng ETV với đột biến kháng thuốc L180M + T184A + M204V [106] và kết quả của Yuen MF (2011) trên 222 BN viêm gan vi rút B mạn điều trị ETV trong 12 tháng chỉ 1 BN có kháng ETV [177]. Cho đến nay chưa có báo cáo về HBV kháng TDF trên lâm sàng ở những BN điều trị TDF. Nghiên cứu của Snow-Lampart (2011) trên 641 BN viêm gan vi rút B mạn không phát hiện các đột biến kháng thuốc sau 144 tuần điều trị TDF [133]. Các tác giả khác cũng nhận thấy sau theo dõi BN điều trị TDF từ 3 - 6 năm không phát hiện các đột biến kháng với TDF [60],[80].

Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị entecavir hoặc tenofovir

4.3.1. Các yếu tố do vi rút viêm gan B

Các yếu tố quyết định khả năng đạt được đáp ứng vi rút, đáp ứng huyết thanh HBeAg và đáp ứng sinh hóa gọi là những yếu tố dự báo đáp ứng hay những yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị. Những yếu tố này có thể là cơ thể con người hay do chính HBV, trước khi điều trị hay trong quá trình điều trị tùy thuộc vào thời điểm đánh giá. Nhiều yếu tố vi rút và cơ thể con người có ảnh hưởng đến đáp ứng

điều trị hay không đáp ứng điều trị, cũng có thể là sự kết hợp của các yếu tố này. Những yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị là tải lượng HBV-ADN trước điều trị, ALT trước điều trị (2 - 5 ULN), thay đổi tải lượng HBV-ADN trong quá trình điều trị.... Trước khi điều trị những yếu tố này rất có giá trị cho BN và thầy thuốc có thể dự báo khả năng đáp ứng điều trị để có thể quyết định điều trị và hướng dẫn trong quá trình điều trị. Tải lượng HBV-ADN trước điều trị thấp là một trong những yếu tố tiên đoán mất HBeAg hoặc chuyển đảo huyết thanh HBeAg cũng như ức chế vi rút ở những BN điều trị thuốc kháng vi rút. Trong quá trình điều trị giảm tải lượng HBV-ADN so với trước điều trị có vai trò quan trọng trong đánh giá hiệu quả điều trị, do đó theo dõi sự thay đổi của tải lượng HBV-ADN sớm trong thời gian điều trị cho phép các thầy thuốc hướng dẫn BN điều trị và đưa ra những biện pháp nhằm hạn chế kháng thuốc hoặc đáp ứng kém. Những nghiên cứu cho thấy tải lượng HBV-ADN trước điều trị có ảnh hưởng tới hiệu quả điều trị bao gồm đáp ứng sinh hóa, chuyển đảo huyết thanh HBeAg, đáp ứng vi rút và cải thiện mô học. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy ở nhóm BN có đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị có tải lượng HBV-ADN trung bình thấp hơn so với nhóm không đáp ứng vi rút tương ứng với $6 \pm 1,5 \log_{10}\text{IU/ml}$ so với $6,7 \pm 1,5 \log_{10}\text{IU/ml}$ với $p=0,02$, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (bảng 3.26). Khi phân chia tải lượng HBV-ADN theo các mức khác nhau cũng nhận thấy ở nhóm BN có đáp ứng vi rút có tỷ lệ % tải lượng HBV-ADN từ $3 - <5 \log_{10}\text{IU/ml}$ cao hơn so với nhóm BN không đáp ứng vi rút tương ứng 30,5% so với 15,7% và tỷ lệ % mức độ HBV-ADN $\geq 8 \log_{10}\text{IU/ml}$ thấp hơn tương ứng với 8,5% so với 21,6% ($p=0,06$) (bảng 3.26). Khi phân tích riêng với nhóm điều trị ETV cũng nhận thấy tải lượng HBV-ADN ở BN có đáp ứng vi rút thấp hơn so với BN không đáp ứng vi rút ($6,1 \pm 1,63 \log_{10}\text{IU/ml}$ so với $7 \pm 1,57 \log_{10}\text{IU/ml}$ với $p=0,04$), BN có đáp ứng vi rút có tỷ lệ % mức độ HBV-ADN từ $3 - <5 \log_{10}\text{IU/ml}$ cao hơn so với nhóm BN không đáp ứng vi rút tương ứng 29,4% so với 12,5% và tỷ lệ % mức độ HBV-ADN $\geq 8 \log_{10}\text{IU/ml}$ thấp hơn tương ứng với 8,8% so với 25%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p=0,047$ (bảng 3.27). Tuy nhiên trên nhóm BN điều trị TDF không có sự khác biệt về tải lượng HBV-ADN

trước điều trị và không có sự khác biệt về mức độ tải lượng HBV-ADN (với $p > 0,05$) (bảng 3.28). Tác giả Lee JM (Hàn Quốc - 2011) cũng nhận thấy tải lượng HBV-ADN trước điều trị ở nhóm BN có đáp ứng vi rút sau điều trị 12 tháng bằng ETV thấp hơn nhóm không có đáp ứng vi rút ($p < 0,001$) [90]. Trong nghiên cứu của Wong GLH tại Hồng Kông (2012) trên 680 BN viêm gan vi rút B mạn điều trị ETV nhận thấy tải lượng HBV-ADN ở nhóm có đáp ứng vi rút sau điều trị 12 tháng thấp hơn so với nhóm BN không có đáp ứng vi rút ($5,6 \pm 1,4 \log_{10}$ IU/ml so với $6,6 \pm 1,3$ với $p < 0,001$) [161]. Tác giả Song JC (Hàn Quốc - 2011) nghiên cứu trên 52 BN viêm gan vi rút B mạn chưa điều trị thuốc kháng vi rút tỷ lệ đáp ứng sau điều trị 12 tháng bằng ETV là 81,5% và so sánh tải lượng HBV-ADN trước điều trị nhận thấy tải lượng HBV-ADN ở nhóm BN có đáp ứng vi rút thấp hơn BN không có đáp ứng vi rút ($p = 0,013$) [134].

Tiến hành phân tích hồi quy logistic đơn biến nhận thấy tải lượng HBV-ADN trước điều trị có ảnh hưởng tới đáp ứng vi rút sau điều trị 12 tháng với OR=0,75; 95%CI: 0,58 - 0,97 và $p = 0,03$ (bảng 3.30). Khi phân tích hồi quy logistic đơn biến tải lượng HBV-ADN trước điều trị cũng có liên quan có ý nghĩa với đáp ứng vi rút sau điều trị 12 tháng (OR=0,75; 95%CI: 0,58 - 0,97 và $p = 0,03$) (bảng 3.30). Kết quả này cũng phù hợp nghiên cứu của Luo J (2013) trên 230 BN viêm gan vi rút B mạn tại Trung Quốc điều trị ETV là tải lượng HBV-ADN trước điều trị có liên quan với đáp ứng vi rút sau điều trị 12 tháng với OR=0,458; 95%CI: 0,281 - 0,748 và $p = 0,002$ trong phân tích đơn biến và OR=0,532; 95%CI: 0,315 - 0,896 và $p = 0,018$ trong phân tích đa biến [106]. Tương tự Wrong (2012) tải lượng HBV-ADN trước điều trị có liên quan đến đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị ETV ($p = 0,002$) [161]. Tác giả Baran B (2013) cũng nhận thấy tải lượng HBV-ADN trước điều trị có liên quan đến đáp ứng vi rút khi điều trị bằng TDF ($p < 0,001$) [21]. Như vậy tải lượng HBV-ADN trước điều trị là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến đáp ứng vi rút sau điều trị 12 tháng, tải lượng HBV-ADN trước điều trị thấp là 1 yếu tố tiên lượng tốt cho đáp ứng vi rút. Hơn nữa tải lượng HBV-ADN trước điều trị thấp là 1 trong những yếu tố tiên đoán mất HBeAg hoặc chuyển đảo huyết thanh HBeAg. Kết quả

nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tải lượng HBV-ADN trước điều trị không có liên quan với chuyển đảo huyết thanh HBeAg sau điều trị 12 tháng bằng ETV hoặc TDF khi phân tích hồi quy logistic đơn biến và đa biến với $p > 0,05$ (OR=0,8; 95%CI: 0,48 - 1,31; $p=0,37$ với phân tích đơn biến và OR=0,95; 95%CI: 0,5 - 1,8; $p=0,88$ với phân tích đa biến) (bảng 3.32). Nhưng tải lượng HBV-ADN trước điều trị có liên quan với đáp ứng sinh hóa sau điều trị 12 tháng (OR=1,3; 95%CI: 1,05 - 1,0; $p=0,02$ với phân tích đơn biến và OR=1,48; 95%CI: 1,02 - 2,2; $p=0,039$ với phân tích đa biến) khi tiến hành phân tích hồi quy logistic đơn biến và đa biến (bảng 3.34). Kết quả nghiên cứu của Wang CC (Đài Loan - 2013) nhận thấy tải lượng HBV-ADN trước điều trị có liên quan đến mất HBeAg sau điều trị ETV 12 tháng ($p=0,014$) [155]. Tác giả Lin B (2013) khi tiến hành phân tích hồi quy đơn biến và đa biến nhận thấy tải lượng HBV-ADN trước điều trị $< 7,5 \log_{10} \text{IU/ml}$ có liên quan đến chuyển đảo huyết thanh HBeAg sau điều trị ETV 12 tháng ($p < 0,05$) [96].

Xét nghiệm kiểu gen HBV hiện nay chưa được áp dụng vào thực tiễn lâm sàng rộng rãi nhưng vẫn có những giá trị nhất định. Tác động của kiểu gen HBV với đáp ứng điều trị IFN, PegIFN và các thuốc kháng vi rút loại NA ngày càng được công nhận. Kiểu gen của HBV đã được chứng minh có liên quan đến hiệu quả điều trị với IFN và PegIFN. BN nhiễm kiểu gen A chủ yếu ở châu Mỹ và Bắc Âu có tỷ lệ chuyển đảo huyết thanh HBeAg và HBsAg cao hơn so với BN nhiễm kiểu gen D (chủ yếu ở Nam Âu) hoặc kiểu gen B và C (chủ yếu ở châu Á) [77],[135],[159]. Trái ngược với điều trị IFN và PegIFN, đáp ứng điều trị khác nhau với các thuốc kháng vi rút loại NA ở những BN có kiểu gen HBV khác nhau vẫn còn là vấn đề gây tranh cãi và kiểu gen HBV dường như không có ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị với các NA. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi xác định có 2 kiểu gen B và C trong đó kiểu gen B chiếm đa số với 73,9% kiểu gen B và 26,1% kiểu gen C (hình 3.1). Kết quả nghiên cứu này cũng cho thấy kiểu gen của HBV không có sự khác biệt giữa nhóm BN có đáp ứng vi rút và không đáp ứng vi rút tương ứng 71,9% so với 73,5% với kiểu gen B và 28,1% với 26,5% với kiểu gen C ($p=0,86$) (bảng 3.26). Kết quả khi phân tích trên từng nhóm BN điều trị ETV hoặc TDF cũng cho kết quả

tương tự, tức là không có sự khác biệt về kiểu gen giữa các nhóm BN đáp ứng vi rút với không đáp ứng vi rút ($p>0,05$) (bảng 3.27 và bảng 3.28). Tiến hành phân tích hồi quy logistic đơn biến và đa biến nhận thấy kiểu gen không có ảnh hưởng tới đáp ứng vi rút sau điều trị 12 tháng (OR=0,93; 95%CI: 0,39 - 2,18; $p=0,86$ với phân tích đơn biến và OR=1,03; 95%CI: 0,34 - 3,13; $p=0,96$ với phân tích đa biến) (bảng 3.30), chuyển đảo huyết thanh HBeAg (OR=0,73; 95%CI: 0,18 - 2,93; $p=0,66$ với phân tích đơn biến và OR=1,7; 95%CI: 0,21 - 14,2; $p=0,61$ với phân tích đa biến) (bảng 3.32) và đáp ứng sinh hóa (OR=1,24; 95%CI: 0,5 - 3,06; $p=0,65$ với phân tích đơn biến) (bảng 3.34). Mặc dù BN viêm gan vi rút B mạn nhiễm kiểu gen A và D đã xác định có đáp ứng tốt hơn với điều trị IFN/PegIFN so với BN nhiễm kiểu gen B và C, nhưng kiểu gen của HBV không thấy có mối liên quan với đáp ứng điều trị của các thuốc kháng vi rút loại NA trong thực hành lâm sàng.

Vi rút viêm gan B có tốc độ đột biến cao, đột biến có thể xảy ra ở mọi vị trí của gen. Các đột biến PC/BCP như PC G1896A, BCP A1762T và BCP G1764A đã được xác định là cơ chế phân tử gây bệnh gây nên thể bệnh viêm gan vi rút B mạn HBeAg âm tính [75]. Tuy nhiên các đột biến này ảnh hưởng đến điều trị các thuốc kháng vi rút trên BN viêm gan vi rút B mạn phần lớn chưa rõ. Nhiều nghiên cứu nhận thấy rằng đột biến PC G1896A hoặc BCP A1762T/G1764A có liên quan đến đáp ứng với điều trị IFN/PegIFN hoặc NA [151],[166]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy sự xuất hiện cả các đột biến PC G1896A, PC G1899A, BCP A1762T và BCP G1764A không có sự khác biệt giữa BN có đáp ứng vi rút với BN không đáp ứng vi rút ($p>0,05$) (bảng 3.26, bảng 3.27 và bảng 3.28). Kết quả phân tích hồi quy logistic đơn biến cũng nhận thấy rằng các đột biến PC/BCP không có liên quan với đáp ứng vi rút, đáp ứng huyết thanh HBeAg và đáp ứng sinh hóa ($p>0,05$) (bảng 3.30, bảng 3.32 và bảng 3.34). Tiến hành phân tích hồi quy logistic đa biến nhận thấy trong mô hình đa biến các đột biến BCP A1762T và G1764A không có mối liên quan với đáp ứng vi rút (OR=0,33; 95%CI: 0,04 - 2,65; $p=0,3$ với đột biến BCP A1762T và OR=3,6; 95%CI: 0,46 - 27,7; $p=0,23$ với đột biến BCP G1764A) (bảng 3.30), với đáp ứng huyết thanh HBeAg (OR=3,5; 95%CI: 4,6 -

12,6; $p=0,000$ với đột biến BCP A1762T) (bảng 3.32) và với đáp ứng sinh hóa (OR=0,2; 95%CI: 0,013 - 1,78; $p=0,13$ với đột biến BCP A1762T và OR=8,3; 95%CI: 0,7-99,5; $p=0,09$ với đột biến BCP G1764A) (bảng 3.34). Tuy nhiên trong phân tích hồi quy logistic đa biến đột biến PC G1896A có mối liên quan với đáp ứng sinh hóa (OR=3,7; 95%CI: 1,04 - 12,9 và $p=0,043$) (bảng 3.34).

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy BN có đáp ứng vi rút có tỷ lệ HBeAg âm tính và anti-HBe dương tính cao hơn so với nhóm BN không đáp ứng vi rút với $p<0,05$ (bảng 3.26). Tỷ lệ HBeAg âm tính của BN đáp ứng vi rút là 66,1% cao hơn so với BN không đáp ứng vi rút (33,3%) ($p=0,001$) (bảng 3.26). Tỷ lệ anti-HBe dương tính của BN đáp ứng vi rút là 64,4% cao hơn BN không đáp ứng vi rút (41,2%) ($p=0,02$) (bảng 3.26). Đối với nhóm BN điều trị thuốc ETV kết quả cũng tương tự với tỷ lệ HBeAg âm tính và anti-HBe dương tính ở nhóm BN có đáp ứng vi rút cao hơn nhóm không đáp ứng vi rút, kết quả có ý nghĩa thống kê với $p<0,05$ (bảng 3.27). Tuy nhiên với nhóm BN điều trị TDF, kết quả HBeAg âm tính và anti-HBe dương tính ở nhóm BN có đáp ứng vi rút cao hơn nhóm không đáp ứng vi rút nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p>0,05$ (bảng 3.28). Kết quả nghiên cứu Wong (2013) trên BN viêm gan vi rút B mạn nhận thấy ở BN có đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị ETV có tỷ lệ HBeAg âm tính cao hơn so với BN còn phát hiện HBV-ADN (70% so với 45% với $p<0,001$) [161]. Kết quả phân tích hồi quy logistic đơn biến nhận thấy HBeAg âm tính và anti-HBe dương tính có mối liên quan với đáp ứng vi rút sau điều trị 12 tháng (OR=3,9; 95%CI: 1,76 - 8,62; $p=0,001$ với HBeAg âm tính và OR=2,59; 95%CI: 1,2 - 5,59; $p=0,02$ với anti-HBe dương tính) (bảng 3.30). Tương tự kết quả phân tích hồi quy logistic đa biến cũng nhận thấy tình trạng HBeAg âm tính cũng có mối liên quan với đáp ứng vi rút với OR=5,4; 95%CI: 1,7 - 17,6 và $p=0,005$ (bảng 3.30). Khi phân tích đơn biến và đa biến các yếu tố liên quan đến đáp ứng vi rút khi điều trị TDF, tác giả Baran B (2013) nhận thấy tình trạng HBeAg trước điều trị có liên quan với đáp ứng vi rút ($p<0,001$) [21]. Tuy nhiên tình trạng HBeAg âm tính không có mối liên quan với đáp ứng sinh hóa sau điều trị 12 tháng với $p>0,05$ (bảng 3.34). Kết quả nghiên cứu

của Luo J (2013) nhận thấy tình trạng HBeAg trước điều trị không có liên quan với đáp ứng vi rút sau điều trị 12 tháng trong phân tích đơn biến với $p=0,071$ [106] nhưng tác giả Wong GLH (2012) lại nhận thấy tình trạng HBeAg trước điều trị có ảnh hưởng đến đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị ETV với $p<0,001$ [161].

4.3.2. Các yếu tố do cơ thể bệnh nhân

Bên cạnh những yếu tố của HBV liên quan đến điều trị các thuốc kháng vi rút loại NA thì những yếu tố do chính bản thân cơ thể con người cũng đóng vai trò quan trọng và có thể liên quan đến đáp ứng điều trị. Những yếu tố cơ thể con người có thể ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị thuốc kháng vi rút như tuổi, giới, IL28B, HLA, các xét nghiệm sinh hóa và huyết học. ALT huyết thanh có giá trị tiên lượng, liên quan đến các biến chứng lâu dài và diễn biến tự nhiên của viêm gan vi rút B mạn. ALT cao (2 - 5 ULN) trước điều trị dự đoán đáp ứng điều trị, chuyển đảo huyết thanh HBeAg. Những tài liệu trước đó đã chỉ ra rằng giá trị của ALT trước điều trị có giá trị tiên đoán đáp ứng điều trị IFN/PegIFN, tuy nhiên chưa thuyết phục cho điều trị của các NA. ALT bình thường sau 6 tháng điều trị dự báo kết quả điều trị sau 12 tháng của các thuốc NA và có mối liên quan đến đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị các NA (tải lượng HBV-ADN dưới ngưỡng phát hiện), đồng thời hồi phục sinh hóa và miễn dịch [76].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy ALT trung bình trước điều trị của nhóm BN đáp ứng vi rút là $144,3 \pm 115,5$ U/L cao hơn nhóm không đáp ứng vi rút là $115,6 \pm 72,7$ U/L nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$) (bảng 3.25). Khi phân chia ALT thành các mức độ khác nhau như ALT <2 ULN, $2-<5$ ULN và ≥ 5 ULN cũng nhận thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa BN có đáp ứng vi rút với BN không đáp ứng vi rút ($p>0,05$) (bảng 3.25). Kết quả nghiên cứu của Wong GLH (2012) nhận thấy ALT trước điều trị ở BN có đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị ETV thấp hơn BN không đáp ứng vi rút nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa ($p>0,05$) và ALT trước điều trị không ảnh hưởng đến đáp ứng vi rút [161] nhưng kết quả nghiên cứu của Chon YE (2011) nhận thấy BN có đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị ETV có ALT trước điều trị cao hơn BN không đáp ứng vi rút ($p=0,008$) [41]. Phân tích hồi quy logistic đơn biến các yếu tố liên quan đến đáp ứng điều trị sau 12 tháng nhận thấy ALT trước điều trị không có mối liên quan với đáp

ứng vi rút và chuyển đảo huyết thanh HBeAg sau 12 tháng điều trị ETV hoặc TDF với $p > 0,05$ (bảng 3.29 và 3.31). Tương tự tác giả Lee MH (Hàn Quốc - 2011) và Luo J (Trung Quốc - 2013) cũng nhận thấy trong phân tích đơn biến ALT trước điều trị không có mối liên quan với đáp ứng vi rút [91],[106] và chuyển đảo huyết thanh HBeAg sau 12 tháng điều trị ETV [91]. Phân tích hồi quy logistic đa biến ALT trước điều trị không có mối liên quan đến đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị (OR=1,002; 95%CI: 1,01 - 1,09; $p=0,07$) (bảng 3.29). Trong đáp ứng sinh hóa sau 12 tháng điều trị ETV hoặc TDF nhận thấy trong cả phân tích hồi quy logistic đơn biến và đa biến đều không có mối liên quan với ALT trước điều trị với $p > 0,05$ (bảng 3.33). Như vậy kết quả điều trị viêm gan vi rút B mạn bằng các NA có thể dự báo bởi nồng độ ALT trước điều trị. Bên cạnh ALT các xét nghiệm sinh hóa khác như nồng độ albumin máu, bilirubin toàn phần và xét nghiệm huyết học như tỷ lệ prothrombin, nồng độ fibrinogen, số lượng tiểu cầu không có sự khác biệt giữa nhóm BN có đáp ứng vi rút so với BN không có đáp ứng vi rút ($p > 0,05$) (bảng 3.25). Tuy nhiên nồng độ AST ở BN đáp ứng vi rút cao hơn so với không có đáp ứng vi rút ($p=0,04$) (bảng 3.25). Tiến hành phân tích hồi quy logistic đơn biến nhận thấy bilirubin toàn phần, tỷ lệ prothrombin, số lượng tiểu cầu và nồng độ fibrinogen không có ảnh hưởng đến đáp ứng vi rút, chuyển đảo huyết thanh HBeAg và đáp ứng sinh hóa với 95%CI chứa giá trị 1 và $p > 0,05$ (bảng 3.29, bảng 3.31 và bảng 3.33). Phân tích hồi quy logistic đa biến nồng độ albumin máu có ảnh hưởng đến đáp ứng vi rút và sinh hóa với 95%CI không chứa giá trị 1 và $p < 0,05$ (bảng 3.29 và bảng 3.33). Nghiên cứu của Lee MH (2011) cũng không thấy có sự khác biệt về nồng độ albumin máu, số lượng tiểu cầu máu ở nhóm BN còn phát hiện HBV-ADN và không phát hiện HBV-ADN sau 12 tháng điều trị ETV [91]. Tác giả cũng tiến hành phân tích đơn biến nhận thấy nồng độ albumin máu và số lượng tiểu cầu không có ảnh hưởng đến đáp ứng vi rút [91]. Tác giả Wong G.L.H (2012) cũng nhận thấy nồng độ albumin máu, bilirubin toàn phần và tiểu cầu máu không có sự khác biệt giữa nhóm đáp ứng vi rút và không có đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị các thuốc kháng vi rút loại ETV ($p > 0,05$) [161].

Bên cạnh những yếu tố về xét nghiệm sinh hóa và huyết học những yếu tố như tuổi, giới cũng có thể có ảnh hưởng đến kết quả điều trị. Kết quả nghiên cứu của

chúng tôi nhận thấy tỷ lệ nam giới không có sự khác biệt giữa nhóm BN đáp ứng vi rút so với nhóm không đáp ứng vi rút ($p>0,05$) (bảng 3.25). Kết quả này tương tự như 1 số tác giả trên thế giới [161]. Tiến hành phân tích hồi quy logistic đơn biến không thấy có mối liên quan giữa nam giới với đáp ứng vi rút, đáp ứng sinh hóa và đáp ứng huyết thanh HBeAg sau 12 tháng điều trị ETV hoặc TDF với $p>0,05$ (bảng 3.29, bảng 3.31 và bảng 3.33). Nhưng trong phân tích hồi quy logistic đa biến có mối liên quan giữa nam giới với đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị ETV hoặc TDF với $OR=3,7$; $95\%CI: 1,3-10,9$ và $p=0,02$ (bảng 3.29).

Tuổi trung bình của BN đáp ứng vi rút là $42,7 \pm 12,7$ tuổi cao hơn so với BN không đáp ứng vi rút là $38,4 \pm 13,6$ tuổi với $p=0,046$ (bảng 3.25). Nghiên cứu của tác giả Wong GLH (2013) nhận thấy tuổi của BN có đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị ETV cao hơn so với BN không đáp ứng vi rút tương ứng là 52 ± 11 (tuổi) so với 49 ± 12 (tuổi) với $p=0,02$ [161] và nghiên cứu của Chon YE (2011) cũng nhận thấy tuổi BN có đáp ứng vi rút sau 12 tháng điều trị ETV cao hơn BN không có đáp ứng vi rút ($p=0,865$) và tỷ lệ nam giới cũng không có sự khác biệt ($p=0,973$) [41]. Tiến hành phân tích đơn biến nhận thấy tuổi không có mối liên quan đến đáp ứng vi rút, đáp ứng sinh hóa và chuyển đảo huyết thanh HBeAg sau 12 tháng điều trị với $p>0,05$ (bảng 3.29, bảng 3.31 và bảng 3.33). Kết quả này tương tự như tác giả Lee MH (Hàn Quốc - 2011), Lee JM (Hàn Quốc - 2011), Luo J (Trung Quốc - 2013) và Wong GLH (Hồng Kông - 2013) nhận thấy trong phân tích đơn biến tuổi và nam giới không có mối liên quan với đáp ứng vi rút [90],[91],[106],[161] và chuyển đảo huyết thanh HBeAg sau 12 tháng điều trị ETV ($p>0,05$) [91].

4.4. Hạn chế của đề tài

Đề tài nghiên cứu trên 202 BN được chẩn đoán viêm gan vi rút B mạn và điều trị thuốc kháng vi rút tại khoa Truyền nhiễm - Bệnh viện Bạch Mai đã đáp ứng được 3 mục tiêu nghiên cứu của đề tài. Tuy nhiên đề tài được thực hiện tại bệnh viện tuyến cuối của khu vực miền Bắc, nên khi đến bệnh viện đại đa số là BN nặng từ các tuyến chuyển đến hoặc là những BN từ các tỉnh thành phố xung quanh Hà Nội hoặc là những BN có điều kiện từ các tỉnh thành phố đến khám và điều trị nên các số liệu về đặc điểm dịch tễ học chỉ có ý nghĩa trong quần thể nghiên cứu, không có ý nghĩa trong cộng đồng và không mang tính đại diện cho cộng đồng.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu 202 BN được chẩn đoán viêm gan vi rút B mạn và điều trị thuốc kháng vi rút tại Khoa Truyền nhiễm - Bệnh viện Bạch Mai từ 8/2010 đến 2/2014 chúng tôi có một số kết luận sau:

1. Đặc điểm dịch tễ và sinh học phân tử

Bệnh nhân phân bố ở nhiều độ tuổi với các nghề nghiệp khác nhau, trung bình là $39,6 \pm 13,9$ tuổi, nam giới chiếm tỷ lệ 63,8%. Thời gian BN phát hiện nhiễm HBV đến khi khám bệnh đa số trong vòng 5 năm (74,3%), trong đó 43,6% BN phát hiện từ 6 - 12 tháng. Tuyệt đại đa số (98,5%) BN phát hiện nhiễm HBV khi trên 16 tuổi. Phát hiện một tỷ lệ đáng kể có yếu tố dịch tễ về nhiễm HBV trong gia đình (mẹ là 30,9% và anh/chị em là 53,5%).

Hai kiểu gen chính được phát hiện gồm kiểu gen B và kiểu gen C trong đó kiểu gen B chiếm đa số (73,6%). Chủng HBV có đột biến ở vùng PC/BCP chiếm tỷ lệ cao (69,5%) với các đột biến PC G1896A, BCP A1762T, BCP G1764A lần lượt là 29,8%; 47,9% và 44,6%. Đột biến PC G1896A ở kiểu gen B cao hơn kiểu gen C, ngược lại đột biến BCP A1762T, BCP G1764A lại cao hơn ở kiểu gen C so với kiểu gen B. Có mối liên quan tỷ lệ thuận giữa đột biến PC/BCP với tuổi và tình trạng HBeAg âm tính. Kết quả nghiên cứu không phát hiện các đột biến kháng thuốc M204I/V, I169T, V173L, L180M, A181T/V, T184G, S202I/G, N236T và M250V ở các chủng HBV tự nhiên cũng như các chủng HBV sau 12 tháng điều trị ETV hoặc TDF. Tải lượng HBV-ADN trung bình của các BN là $6,4 \pm 1,5 \log_{10}$ IU/ml chủ yếu ở mức $5 - <8 \log_{10}$ IU/ml (64,4%).

2. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng

Hầu hết BN không có triệu chứng lâm sàng điển hình, trong đó các triệu chứng đặc hiệu cho viêm gan chiếm tỷ lệ rất thấp (vàng da, vàng mắt: 10,4%; gan to: 2%; nước tiểu vàng: 35,7%). Triệu chứng lâm sàng không tương ứng với mức độ

tăng ALT và tải lượng HBV-ADN, có 22,8% BN có bùng phát sinh hóa với ALT tăng trên 5 ULN.

Không có sự khác biệt về triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng (sinh hóa, huyết học, HBeAg và anti-HBe) giữa hai kiểu gen B và C. Mức độ tăng ALT, HBeAg dương tính và HBV-DNA cao hơn ở nhóm tuổi trẻ.

3. Một số yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị của thuốc kháng vi rút.

Những yếu tố có ảnh hưởng làm tăng hiệu quả điều trị về đáp ứng vi rút sau 12 tháng bao gồm: Tải lượng HBV-ADN thấp, HBeAg âm tính và anti-HBe dương tính trước điều trị. Không phát hiện thấy những yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị về đáp ứng huyết thanh ở BN có HBeAg dương tính. Yếu tố ảnh hưởng đến tăng đáp ứng sinh hóa là tải lượng HBV-ADN thấp trước khi điều trị.

KHUYẾN NGHỊ

1. Cần có kế hoạch phát hiện sớm những người bị nhiễm HBV để có thể quản lý, chăm sóc, điều trị và theo dõi định kỳ.
2. Cần tiến hành kiểm tra tình trạng nhiễm HBV của các thành viên trong gia đình BN nhằm phát hiện sớm những thành viên khác trong gia đình bị nhiễm HBV để quản lý, theo dõi và điều trị kịp thời.
3. Các BN viêm gan vi rút B mạn điều trị thuốc kháng vi rút loại NA (ETV hoặc TDF) cần xét nghiệm tải lượng HBV-ADN và khi có bùng phát vi rút cần được xác định các đột biến kháng thuốc với các thuốc kháng vi rút đang sử dụng để điều chỉnh thuốc phù hợp.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN

1. Nguyễn Văn Dũng, Bùi Thị Lan Anh, Nguyễn Thùy Linh, Trịnh Thị Ngọc, Nguyễn Thị Lan Anh (2013), "Nghiên cứu đột biến vùng gen precore/core vi rút HBV trên BN viêm gan vi rút B mạn tính tại bệnh viện Bạch Mai", *Tạp chí Y học Dự phòng*, Tập XXIII, Số 7 (143), page 19 - 25.
2. Nguyễn Văn Dũng, Bùi Thị Lan Anh, Nguyễn Thùy Linh, Đỗ Thị Diễm Trinh, Đỗ Huy Dương, Trịnh Thị Ngọc, Nguyễn Thị Lan Anh (2014), "Đặc điểm dịch tễ học lâm sàng và cận lâm sàng BN viêm gan vi rút B mạn điều trị tại bệnh viện Bạch Mai", *Tạp chí Y học Dự phòng*, Tập XXIV, Số 8(153), page 134 - 142.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

TIẾNG VIỆT

1. Đông Thị Hoài An và Phạm Hoàng Phiệt (2003), "Kỹ thuật định tít gen siêu vi viêm gan B bằng Multiplex PCR trên bệnh nhân nhiễm siêu vi viêm gan B mạn tính", *Y học thành phố Hồ Chí Minh*. 7, trang 145-150.
2. Nguyễn Đạt Anh và Nguyễn Thị Hương (2013), *Các xét nghiệm thường quy áp dụng trong thực hành lâm sàng*, Nhà xuất bản y học.
3. Mai Hồng Bằng và Lê Hữu Song (2008), "Nghiên cứu so sánh hiệu quả của entecavir và lamivudin trong điều trị viêm gan vi rút B mạn tính", *Tạp chí Gan mật Việt Nam*. 8, trang 6-12.
4. Bộ Y tế (2009), "Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị HIV/AIDS, ban hành kèm theo quyết định số 3003/QĐ-BYT ngày 19/8/2009 của Bộ trưởng Bộ Y tế".
5. Nguyễn Mạnh Đức (2008), *Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và bước đầu nhận xét tác dụng của entecavir trong điều trị bệnh nhân viêm gan B mạn tính*, Luận văn thạc sỹ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
6. Phạm Thị Lệ Hoa, Huỳnh Trung Hiếu và Nguyễn Thị Cẩm Hưng (2010), "Đột biến Precore và core promoter trên bệnh nhân viêm gan B mạn tính tại bệnh viện nhiệt đới thành phố Hồ Chí Minh", *Y học TP. Hồ Chí Minh*. 14(1), trang 440-446.
7. Bùi Hữu Hoàng và Phạm Hoàng Phiệt (2003), "Kiểu gen của siêu vi viêm gan B trên bệnh nhân xơ gan và ung thư gan nguyên phát", *Y học thành phố Hồ Chí Minh*. 7(1), trang 145-150.
8. Đinh Dạ Lý Hương (2007), "Kết quả 1 năm điều trị entecavir cho bệnh nhân viêm gan B mạn tính HBeAg âm tính", *Tạp chí Gan mật Việt Nam*. 2, trang 26-29.

9. Nguyễn Công Long (2007), *Nghiên cứu mối liên quan giữa nồng độ HBV-DNA trong máu với kiểu gen và HBeAg ở người lành và người bệnh gan mạn tính HBsAg (+)*, Thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
10. Trịnh Thị Ngọc và Nguyễn Văn Dũng (2011), "Nhận xét bước đầu hiệu quả của tenofovir trong điều trị bệnh nhân viêm gan vi rút B mạn tính", *Tạp chí y học thực hành*. 781, trang 14-18.
11. Lương Thị Hồng Nhung (2009), *Xác định kiểu gen, đột biến vùng gen pre-core/core promoter và mối liên quan với HBeAg của một số chủng HBV ở bệnh nhân viêm gan mạn tính tại Viện các bệnh Truyền nhiễm và Nhiệt đới quốc gia*, Thạc sỹ Y học, Đại học Y Hà Nội.
12. Phan Thị Phi Phi, Trần Thị Chính và Trương Mộng Long (1993), "Góp phần nghiên cứu ung thư tế bào gan nguyên phát ở Việt Nam. Tần suất HBsAg trong huyết thanh người lành và người bị ung thư tế bào gan", *Y học Việt Nam*. 1(171), trang 26-30.
13. Trần Ngọc Quế (2003), *Nghiên cứu tình hình nhiễm HIV, HBV, HCV ở các đối tượng sinh viên - học sinh cho máu tại Viện Huyết học - Truyền máu*, Luận văn Thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
14. Nguyễn Trường Sơn (2005), *Nghiên cứu tỷ lệ các kiểu gen của vi rút viêm gan B ở một số người lành mang vi rút và người mắc bệnh gan mạn tính*, Luận văn Thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
15. Nguyễn Trường Sơn và cộng sự. (2006), "Nghiên cứu tỷ lệ các kiểu gen của vi rút viêm gan B ở một số người lành mang vi rút và người mắc bệnh gan mạn tính tại miền Bắc Việt Nam", *Y học lâm sàng*. 2, trang 139-142.

TIẾNG ANH

16. Ahn S.S et al. (2014), "Tenofovir disoproxil fumarate monotherapy for nucleos(t)ide-naive chronic hepatitis B patients in Korea: data from the clinical practice setting in a single-center cohort", *Clin Mol Hepatol.* 20(3), page 261-6.
17. Alfaresi M. et al. (2010), "Hepatitis B virus genotypes and precore and core mutants in UAE patients", *Viol J.* 7, page 160.
18. Alter M. J. et al. (1990), "The changing epidemiology of hepatitis B in the United States. Need for alternative vaccination strategies", *JAMA.* 263(9), page 1218-22.
19. Alter M. J. and Margolis H.S. (1990), "The emergence of hepatitis B as a sexually transmitted disease", *Med Clin North Am.* 74(6), page 1529-41.
20. Aung M. N. et al. (2013), "Chronic hepatitis B prognostic markers other than pre-treatment viral load predicted composite treatment outcome", *J Infect Dev Ctries.* 7(7), page 541-9.
21. Baran B. et al. (2013), "Efficacy of tenofovir in patients with Lamivudine failure is not different from that in nucleoside/nucleotide analogue-naive patients with chronic hepatitis B", *Antimicrob Agents Chemother.* 57(4), page 1790-6.
22. Berg T. et al. (2010), "Tenofovir is effective alone or with emtricitabine in adefovir-treated patients with chronic-hepatitis B virus infection", *Gastroenterology.* 139(4), page 1207-17.
23. Blumberg B.S., Alter H.J. and Visnich S. (1965), "A "New" Antigen in leukemia sera", *JAMA.* 191, page 541-6.
24. Bonino F. et al. (2007), "Predicting response to peginterferon alpha-2a, lamivudine and the two combined for HBeAg-negative chronic hepatitis B", *Gut.* 56(5), page 699-705.

25. Brunetto M.R. et al. (2009), "Hepatitis B virus surface antigen levels: a guide to sustained response to peginterferon alfa-2a in HBeAg-negative chronic hepatitis B", *Hepatology*. 49(4), page 1141-50.
26. Buster E.H. et al. (2008), "Sustained HBeAg and HBsAg loss after long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with peginterferon alpha-2b", *Gastroenterology*. 135(2), page 459-67.
27. Carman W. F. et al. (1989), "Mutation preventing formation of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection", *Lancet*. 2(8663), page 588-91.
28. Ceylan B. et al. (2013), "Comparison of tenofovir and entecavir in patients with chronic HBV infection", *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 17(18), page 2467-73.
29. Chan H.L.Y and Vincent Wai-Sun Wong (2012), "Chapter 30 - Hepatitis B", *Zakim and Boyer's Hepatology (Sixth Edition)*, W.B. Saunders, Saint Louis, page 540-563.
30. Chang T. T. et al. (2010), "Entecavir treatment for up to 5 years in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B", *Hepatology*. 51(2), page 422-30.
31. Chang T. T. et al. (2006), "A Comparison of Entecavir and Lamivudine for HBeAg-Positive Chronic Hepatitis B", *New England Journal of Medicine*. 354(10), page 1001-1010.
32. Chauhan R. et al. (2006), "Basal core promoter, precore region mutations of HBV and their association with e antigen, genotype, and severity of liver disease in patients with chronic hepatitis B in India", *Journal of Medical Virology*. 78(8), page 1047-1054.

33. Chen C.H. et al. (2004), "Correlations between hepatitis B virus genotype and cirrhotic or non-cirrhotic hepatoma", *Hepatology*. 51(56), page 552-5.
34. Chen C.J. and Yang H.I. (2011), "Natural history of chronic hepatitis B REVEALed", *J Gastroenterol Hepatol*. 26(4), page 628-38.
35. Chen C. J. et al. (2006), "Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level", *JAMA*. 295(1), page 65-73.
36. Chen C. H. et al. (2007), "Clinical significance and evolution of core promoter and precore mutations in HBeAg-positive patients with HBV genotype B and C: a longitudinal study", *Liver International*. 27(6), page 806-815.
37. Chen C. H. et al. (2005), "Clinical Significance of Hepatitis B Virus (HBV) Genotypes and Precore and Core Promoter Mutations Affecting HBV e Antigen Expression in Taiwan", *Journal of Clinical Microbiology*. 43(12), page 6000-6006.
38. Chen G. et al. (2006), "Past HBV viral load as predictor of mortality and morbidity from HCC and chronic liver disease in a prospective study", *Am J Gastroenterol*. 101(8), page 1797-803.
39. Chien R. N. (2008), "Current therapy for hepatitis C or D or immunodeficiency virus concurrent infection with chronic hepatitis B", *Hepatol Int*. 2(3), page 296-303.
40. Choi J. W. et al. (2009), "Hepatitis B e antigen-negative mutations in the precore and core promoter regions in Korean patients", *Journal of Medical Virology*. 81(4), page 594-601.
41. Chon Y. E. et al. (2011), "Partial virological response to entecavir in treatment-naive patients with chronic hepatitis B", *Antivir Ther*. 16(4), page 469-77.

42. Chu C.J., Hussain M. and Lok A. S. (2002), "Hepatitis B virus genotype B is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepatitis B virus genotype C", *Gastroenterology*. 122(7), page 1756-62.
43. Chu C. M. et al. (2002), "Precore stop mutant in HBeAg-positive patients with chronic hepatitis B: clinical characteristics and correlation with the course of HBeAg-to-anti-HBe seroconversion", *J Clin Microbiol*. 40(1), page 16-21.
44. Damerow H. et al. (2010), "Mutation pattern of lamivudine resistance in relation to hepatitis B genotypes: hepatitis B genotypes differ in their lamivudine resistance associated mutation pattern", *J Med Virol*. 82(11), page 1850-8.
45. Dane D. S., Cameron C. H. and M. Briggs (1970), "Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis", *Lancet*. 1(7649), page 695-8.
46. Dogan U. B. et al. (2012), "Comparison of the efficacy of tenofovir and entecavir for the treatment of nucleos(t)ide-naive patients with chronic hepatitis B", *Turk J Gastroenterol*. 23(3), page 247-52.
47. Dore G. J. et al. (2004), "Efficacy of tenofovir disoproxil fumarate in antiretroviral therapy-naive and -experienced patients coinfecting with HIV-1 and hepatitis B virus", *J Infect Dis*. 189(7), page 1185-92.
48. Du H. et al. (2007), "Correlation of hepatitis B virus (HBV) genotypes and mutations in basal core promoter/precore with clinical features of chronic HBV infection", *Liver International*. 27(2), page 240-246.
49. Duong T. H. et al. (2009), "Risk factors for hepatitis B infection in rural Vietnam", *Asian Pac J Cancer Prev*. 10(1), page 97-102.

50. Dusheiko G. M. (2010), "Lamivudine and Adefovir Resistance: What should we do?", *Clinical Dilemmas in Viral Liver Disease*, Wiley-Blackwell, page 181-187.
51. Erhardt A. et al. (2005), "Response to interferon alfa is hepatitis B virus genotype dependent: genotype A is more sensitive to interferon than genotype D", *Gut*. 54(7), page 1009-13.
52. European Association for the Study of the Liver (2009), "EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B", *Journal of Hepatology*. 50(2), page 227-242.
53. European Association for the Study of the Liver (2012), "EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection", *Journal of Hepatology*. 57(1), page 167-185.
54. Fattovich G. et al. (2008), "Long-term outcome of chronic hepatitis B in Caucasian patients: mortality after 25 years", *Gut*. 57(1), page 84-90.
55. Fattovich G. et al. (2002), "Effect of hepatitis B and C virus infections on the natural history of compensated cirrhosis: a cohort study of 297 patients", *Am J Gastroenterol*. 97(11), page 2886-95.
56. Fung J. et al. (2011), "Quantitative hepatitis B surface antigen levels in patients with chronic hepatitis B after 2 years of entecavir treatment", *Am J Gastroenterol*. 106(10), page 1766-73.
57. Fung S. K et al. (2006), "Hepatitis B virus genotypes, precore and core promoter variants among predominantly Asian patients with chronic HBV infection in a Canadian center", *Liver International*. 26(7), page 796-804.
58. Gan C. Y. et al. (1991), "Hepatitis B infection among Chinese STD patients in Kuala Lumpur, Malaysia", *Sex Transm Dis*. 18(2), page 84-8.

59. Han Y. et al. (2009), "Characterization of hepatitis B virus reverse transcriptase sequences in Chinese treatment naive patients", *J Gastroenterol Hepatol.* 24(8), page 1417-23.
60. Heathcote E. J. et al. (2011), "Three-year efficacy and safety of tenofovir disoproxil fumarate treatment for chronic hepatitis B", *Gastroenterology.* 140(1), page 132-43.
61. Hipgrave D. B. et al. (2003), "Hepatitis B infection in rural Vietnam and the implications for a national program of infant immunization", *Am J Trop Med Hyg.* 69(3), page 288-94.
62. Hoang B. et al. (1985), "[Prevalence of hepatitis B viral markers in Vietnamese blood donors]", *Rev Fr Transfus Immunohematol.* 28(3), page 227-36.
63. Hongthanakorn C. et al. (2011), "Virological breakthrough and resistance in patients with chronic hepatitis B receiving nucleos(t)ide analogues in clinical practice", *Hepatology.* 53(6), page 1854-63.
64. Hsieh T. H. et al. (2009), "Hepatitis B virus genotype B has an earlier emergence of lamivudine resistance than genotype C", *Antivir Ther.* 14(8), page 1157-63.
65. Huy T. T. et al. (2004), "Characteristics of core promoter and precore stop codon mutants of hepatitis B virus in Vietnam", *J Med Virol.* 74(2), page 228-36.
66. Iloeje U. H. et al. (2006), "Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load", *Gastroenterology.* 130(3), page 678-86.
67. Imamura T. et al. (2003), "Distribution of hepatitis B viral genotypes and mutations in the core promoter and precore regions in acute forms of liver disease in patients from Chiba, Japan", *Gut.* 52(11), page 1630-1637.

68. Janssen H. L. et al. (2005), "Pegylated interferon alfa-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomised trial", *Lancet*. 365(9454), page 123-9.
69. Jardi R. et al. (2007), "Hepatitis B virus polymerase variants associated with entecavir drug resistance in treatment-naive patients", *J Viral Hepat*. 14(12), page 835-40.
70. Jaroszewicz J. et al. (2010), "Hepatitis B surface antigen (HBsAg) levels in the natural history of hepatitis B virus (HBV)-infection: a European perspective", *J Hepatol*. 52(4), page 514-22.
71. Kakumu S. et al. (1998), "Prevalence of hepatitis B, hepatitis C, and GB virus C/hepatitis G virus infections in liver disease patients and inhabitants in Ho Chi Minh, Vietnam", *J Med Virol*. 54(4), page 243-8.
72. Kao J. H. (2002), "Hepatitis B viral genotypes: clinical relevance and molecular characteristics", *J Gastroenterol Hepatol*. 17(6), page 643-50.
73. Kao J. H. (2011), "Molecular epidemiology of hepatitis B virus", *Korean J Intern Med*. 26(3), page 255-61.
74. Kao J. H. et al. (2002), "Genotypes and clinical phenotypes of hepatitis B virus in patients with chronic hepatitis B virus infection", *J Clin Microbiol*. 40(4), page 1207-9.
75. Karayiannis P., William F. Carman and Howard C. Thomas (2013), "Molecular Variants of the Precore, Core, and Core Promoter Regions of Hepatitis B Virus, and Their Clinical Significance", *Viral Hepatitis*, John Wiley & Sons, Ltd, page 127-142.
76. Kau A., Vermehren J. and Sarrazin C. (2008), "Treatment predictors of a sustained virologic response in hepatitis B and C", *J Hepatol*. 49(4), page 634-51.

77. Keeffe E. B. et al. (2007), "Report of an international workshop: Roadmap for management of patients receiving oral therapy for chronic hepatitis B", *Clin Gastroenterol Hepatol.* 5(8), page 890-7.
78. Kidd-Ljunggren K., E. Myhre and Blackberg J. (2004), "Clinical and serological variation between patients infected with different Hepatitis B virus genotypes", *J Clin Microbiol.* 42(12), page 5837-41.
79. Kim do Y. et al. (2013), "Quasispecies and pre-existing drug-resistant mutations of hepatitis B virus in patients with chronic hepatitis B", *Gut Liver.* 7(3), page 329-34.
80. Kitrinis K. M. et al. (2013), "No detectable resistance to tenofovir disoproxil fumarate after 6 years of therapy in patients with chronic hepatitis B", *Hepatology.*
81. Kitrinis K. M. et al. (2014), "No detectable resistance to tenofovir disoproxil fumarate after 6 years of therapy in patients with chronic hepatitis B", *Hepatology.* 59(2), page 434-442.
82. Kobayashi M. et al. (2008), "Change of hepatitis B virus genotypes in acute and chronic infections in Japan", *Journal of Medical Virology.* 80(11), page 1880-1884.
83. Lai C. L. et al. (2007), "Telbivudine versus lamivudine in patients with chronic hepatitis B", *N Engl J Med.* 357(25), page 2576-88.
84. Lai C. L. and Stephen Locarnini (2008), *Hepatitis B virus*, Second edition, International Medical Press.
85. Lai C. L. et al. (2006), "Entecavir versus Lamivudine for Patients with HBeAg-Negative Chronic Hepatitis B", *New England Journal of Medicine.* 354(10), page 1011-1020.

86. Lai C. L. and Yuen M. F. (2008), "Treatment of chronic hepatitis B", trong Ching-Lung Lai và Stephen Locarnini, chủ biên, *Hepatitis B virus*, International Medical Press, page 15.1-15.51.
87. Lau G. K. et al. (2005), "Peginterferon Alfa-2a, lamivudine, and the combination for HBeAg-positive chronic hepatitis B", *N Engl J Med.* 352(26), page 2682-95.
88. Lavanchy D. (2007), "Epidemiology", *Viral Hepatitis*, Blackwell Publishing Ltd, page 181-192.
89. Lee C. M. et al. (2003), "Prevalence and clinical implications of hepatitis B virus genotypes in southern Taiwan", *Scand J Gastroenterol.* 38(1), page 95-101.
90. Lee J. M. et al. (2011), "Quantitative hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen titers in prediction of treatment response to entecavir", *Hepatology.* 53(5), page 1486-93.
91. Lee M. H. et al. (2011), "Correlation of serum hepatitis B surface antigen level with response to entecavir in naive patients with chronic hepatitis B", *J Med Virol.* 83(7), page 1178-86.
92. Leung N. et al. (2009), "Early hepatitis B virus DNA reduction in hepatitis B e antigen-positive patients with chronic hepatitis B: A randomized international study of entecavir versus adefovir", *Hepatology.* 49(1), page 72-9.
93. Liaw Y. F. (2009), "Natural history of chronic hepatitis B virus infection and long-term outcome under treatment", *Liver Int.* 29 Suppl 1, page 100-7.
94. Liaw Y. F. (2013), "Natural History of Chronic Hepatitis B Virus Infection", *Viral Hepatitis*, John Wiley & Sons, Ltd, page 143-153.
95. Liaw Y. F. et al. (2012), "Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2012 update", *Hepatology International.* 6(3), page 531-561.

96. Lin B. et al. (2013), "Low incidence of hepatitis B e antigen seroconversion in patients treated with oral nucleos(t)ides in routine practice", *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 28(5), page 855-860.
97. Lin C. L. and Kao J. H. (2008), "Hepatitis B viral factors and clinical outcomes of chronic hepatitis B", *J Biomed Sci*. 15(2), page 137-45.
98. Lin C. L. and Kao J.H. (2011), "The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances", *J Gastroenterol Hepatol*. 26 Suppl 1, page 123-30.
99. Liu C. J. et al. (2006), "Role of hepatitis B viral load and basal core promoter mutation in hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers", *J Infect Dis*. 193(9), page 1258-65.
100. Liu C. J. et al. (2006), "Role of Hepatitis B Virus Precore/Core Promoter Mutations and Serum Viral Load on Noncirrhotic Hepatocellular Carcinoma: A Case-Control Study", *Journal of Infectious Diseases*. 194(5), page 594-599.
101. Liu L. J. et al. (2010), "rtE218G, a novel hepatitis B virus mutation with resistance to adefovir dipivoxil in patients with chronic hepatitis B", *J Viral Hepat*. 17 Suppl 1, page 66-72.
102. Lok A. S. and McMahon B. J. (2009), "Chronic hepatitis B: update 2009", *Hepatology*. 50(3), page 1-36.
103. Lok A. S. and Francesco Negro (2011), "Hepatitis B and D", *Schiff's Diseases of the Liver*, Wiley-Blackwell, page 537-581.
104. Lu H. et al. (2011), "Optimization of adefovir therapy in chronic hepatitis B according to baseline predictors and on-treatment HBV DNA: a 5-year prospective study", *Virol J*. 8, page 444.
105. Luangsay S. and Fabien Zoulim (2013), "Structure and Molecular Virology", *Viral Hepatitis*, John Wiley & Sons, Ltd, page 63-80.

106. Luo J. et al. (2013), "Efficacy of entecavir treatment for up to 5 years in nucleos(t)ide-naive chronic hepatitis B patients in real life", *Int J Med Sci.* 10(4), page 427-33.
107. Lv G. C. et al. (2010), "Efficacy of telbivudine in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with high baseline ALT levels", *World J Gastroenterol.* 16(32), page 4095-9.
108. Mahabadi M. et al. (2012), "Drug-Related Mutational Patterns in Hepatitis B Virus (HBV) Reverse Transcriptase Proteins From Iranian Treatment-Naïve Chronic HBV Patients", *Hepat Mon.* 13(1), page e6712.
109. Marcellin Patrick et al. (2008), "Tenofovir Disoproxil Fumarate versus Adefovir Dipivoxil for Chronic Hepatitis B", *New England Journal of Medicine.* 359(23), page 2442-2455.
110. McMahon B. J. (2005), "Epidemiology and Natural History of Hepatitis B", *Seminars in liver disease.* 25(Supplement 1), page 3-8.
111. Mirandola S. et al. (2011), "Large-scale survey of naturally occurring HBV polymerase mutations associated with anti-HBV drug resistance in untreated patients with chronic hepatitis B", *J Viral Hepat.* 18(7), page e212-6.
112. Mommeja-Marin H. et al. (2003), "Serum HBV DNA as a marker of efficacy during therapy for chronic HBV infection: analysis and review of the literature", *Hepatology.* 37(6), page 1309-19.
113. Moucari R. et al. (2009), "Early serum HBsAg drop: a strong predictor of sustained virological response to pegylated interferon alfa-2a in HBeAg-negative patients", *Hepatology.* 49(4), page 1151-7.
114. Nakata S. et al. (1994), "Hepatitis C and B virus infections in populations at low or high risk in Ho Chi Minh and Hanoi, Vietnam", *J Gastroenterol Hepatol.* 9(4), page 416-9.

115. Nguyen L. H. et al. (2009), "Prevalence of hepatitis B virus genotype B in Vietnamese patients with chronic hepatitis B", *Hepatol Int.* 3(3), page 461-7.
116. Nguyen M. H. et al. (2009), "Prevalence of hepatitis B virus DNA polymerase mutations in treatment-naïve patients with chronic hepatitis B", *Alimentary Pharmacology & Therapeutics.* 30(11-12), page 1150-1158.
117. Nguyen V. T., McLaws M. L. and G. J. Dore (2007), "Highly endemic hepatitis B infection in rural Vietnam", *J Gastroenterol Hepatol.* 22(12), page 2093-100.
118. Olinger C. M. et al. (2008), "Possible new hepatitis B virus genotype, southeast Asia", *Emerg Infect Dis.* 14(11), page 1777-80.
119. Orito E. et al. (2001), "A case-control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B viruses of genotypes B and C. Japan HBV Genotype Research Group", *Hepatology.* 33(1), page 218-23.
120. Orito E. et al. (2001), "Geographic distribution of hepatitis B virus (HBV) genotype in patients with chronic HBV infection in Japan", *Hepatology.* 34(3), page 590-594.
121. Pan C. Q. et al. (2014), "Efficacy and safety of tenofovir disoproxil fumarate in asian-americans with chronic hepatitis B in community settings", *PLoS One.* 9(3), page e89789.
122. Patterson S. J. et al. (2011), "Tenofovir disoproxil fumarate rescue therapy following failure of both lamivudine and adefovir dipivoxil in chronic hepatitis B", *Gut.* 60(2), page 247-54.
123. Piratvisuth T. et al. (2011), "Hepatitis B surface antigen: association with sustained response to peginterferon alfa-2a in hepatitis B e antigen-positive patients", *Hepatol Int.*

124. Qin Y. et al. (2009), "Prevalence of basal core promoter and precore mutations in Chinese chronic hepatitis B patients and correlation with serum HBeAg titers", *Journal of Medical Virology*. 81(5), page 807-814.
125. Reijnders J. G. et al. (2011), "Kinetics of hepatitis B surface antigen differ between treatment with peginterferon and entecavir", *J Hepatol*. 54(3), page 449-54.
126. Ren F. Y., Piao D. M. and Piao X. X. (2007), "A one-year trial of entecavir treatment in patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B", *World J Gastroenterol*. 13(31), page 4264-7.
127. Ren X. et al. (2010), "Hepatitis B virus genotype and basal core promoter/precore mutations are associated with hepatitis B-related acute-on-chronic liver failure without pre-existing liver cirrhosis", *Journal of Viral Hepatitis*. 17(12), page 887-895.
128. Roggendorf M. and Viazov S. (2003), "Health care workers and hepatitis B", *J Hepatol*. 39 Suppl 1, page S89-92.
129. Shi M. et al. (2012), "Hepatitis B virus genotypes, precore mutations, and basal core promoter mutations in HBV-infected Chinese patients with persistently normal alanine aminotransferase and low serum HBV-DNA levels", *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 16, page 52-56.
130. Shi W. et al. (2013), "Hepatitis B virus subgenotyping: history, effects of recombination, misclassifications, and corrections", *Infect Genet Evol*. 16, page 355-61.
131. Shin J. W. et al. (2009), "Clinical usefulness of sequential hepatitis B virus DNA measurement (the roadmap concept) during adefovir treatment in lamivudine-resistant patients", *Antivir Ther*. 14(2), page 181-6.

132. Singla B. et al. (2013), "Hepatitis B virus reverse transcriptase mutations in treatment Naïve chronic hepatitis B patients", *Journal of Medical Virology*. 85(7), page 1155-1162.
133. Snow-Lampart S. et al. (2011), "No resistance to tenofovir disoproxil fumarate detected after up to 144 weeks of therapy in patients monoinfected with chronic hepatitis B virus", *Hepatology*. 53(3), page 763-73.
134. Song J. C. et al. (2011), "Pretreatment serum HBsAg-to-HBV DNA ratio predicts a virologic response to entecavir in chronic hepatitis B", *Korean J Hepatol*. 17(4), page 268-273.
135. Sonneveld M. J. et al. (2010), "Prediction of sustained response to peginterferon alfa-2b for hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B using on-treatment hepatitis B surface antigen decline", *Hepatology*. 52(4), page 1251-7.
136. Sonneveld M. J. et al. (2012), "Durable hepatitis B surface antigen decline in hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B patients treated with pegylated interferon-alpha2b: relation to response and HBV genotype", *Antivir Ther*. 17(1), page 9-17.
137. Sonneveld M. J. et al. (2012), "Presence of precore and core promoter mutants limits the probability of response to peginterferon in hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B", *Hepatology*. 56(1), page 67-75.
138. Spradling P. R., Dale J. Hu và Brian J. McMahon (2013), "Epidemiology and Prevention", *Viral Hepatitis*, John Wiley & Sons, Ltd, page 81-95.
139. Sumi H. et al. (2003), "Influence of hepatitis B virus genotypes on the progression of chronic type B liver disease", *Hepatology*. 37(1), page 19-26.
140. Sunbul M. (2014), "Hepatitis B virus genotypes: global distribution and clinical importance", *World J Gastroenterol*. 20(18), page 5427-34.

141. Tangkijvanich P. et al. (2005), "Hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma in Thailand", *World J Gastroenterol.* 11(15), page 2238-43.
142. Tatematsu K. et al. (2009), "A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a Japanese patient and provisionally assigned to new genotype J", *J Virol.* 83(20), page 10538-47.
143. Tenney D. J. et al. (2009), "Long-term monitoring shows hepatitis B virus resistance to entecavir in nucleoside-naïve patients is rare through 5 years of therapy", *Hepatology.* 49(5), page 1503-14.
144. Ter Borg M. J. et al. (2008), "ALT and viral load decline during PEG-IFN alpha-2b treatment for HBeAg-positive chronic hepatitis B", *J Clin Virol.* 42(2), page 160-4.
145. Thuy le T. T. et al. (2005), "Distribution of genotype/subtype and mutational spectra of the surface gene of hepatitis B virus circulating in Hanoi, Vietnam", *J Med Virol.* 76(2), page 161-9.
146. Toan N. L. et al. (2006), "Impact of the hepatitis B virus genotype and genotype mixtures on the course of liver disease in Vietnam", *Hepatology.* 43(6), page 1375-1384.
147. Tran H.T. et al. (2003), "Prevalence of hepatitis virus types B through E and genotypic distribution of HBV and HCV in Ho Chi Minh City, Vietnam", *Hepatol Res.* 26(4), page 275-280.
148. Truong B. X. et al. (2007), "Genotype and variations in core promoter and pre-core regions are related to progression of disease in HBV-infected patients from Northern Vietnam", *Int J Mol Med.* 19(2), page 293-9.
149. Tseng T. C. et al. (2009), "Association of baseline viral factors with response to lamivudine therapy in chronic hepatitis B patients with high serum alanine aminotransferase levels", *Antivir Ther.* 14(2), page 203-10.

150. Tseng T. C. et al. (2012), "High levels of hepatitis B surface antigen increase risk of hepatocellular carcinoma in patients with low HBV load", *Gastroenterology*. 142(5), page 1140-1149 e3; quiz e13-4.
151. Tseng T. C. et al. (2011), "Effect of host and viral factors on hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B patients receiving pegylated interferon-alpha-2a therapy", *Antivir Ther*. 16(5), page 629-37.
152. Utama U. et al. (2011), "Association of core promoter mutations of hepatitis B virus and viral load is different in HBeAg(+) and HBeAg(-) patients", *World J Gastroenterol*. 17(6), page 708-16.
153. Van Bommel F. et al. (2010), "Long-term efficacy of tenofovir monotherapy for hepatitis B virus-monoinfected patients after failure of nucleoside/nucleotide analogues", *Hepatology*. 51(1), page 73-80.
154. Vutien P. et al. (2013), "Precore and basal core promoter mutations in Asian American patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B", *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 37(4), page 464-472.
155. Wang C. C. et al. (2013), "Viral load and alanine aminotransferase correlate with serologic response in chronic hepatitis B patients treated with entecavir", *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 28(1), page 46-50.
156. Wang Z. et al. (2007), "Clinical and virological characteristics of hepatitis B virus subgenotypes Ba, C1, and C2 in China", *J Clin Microbiol*. 45(5), page 1491-6.
157. Weinbaum C. M. et al. (2008), "Recommendations for identification and public health management of persons with chronic hepatitis B virus infection", *MMWR Recomm Rep*. 57(RR-8), page 1-20.
158. Wiegand J., Hasenclever D. and Tillmann H. L. (2008), "Should treatment of hepatitis B depend on hepatitis B virus genotypes? A hypothesis generated

- from an explorative analysis of published evidence", *Antivir Ther.* 13(2), page 211-20.
159. Wiegand J. et al. (2008), "A decline in hepatitis B virus surface antigen (hbsag) predicts clearance, but does not correlate with quantitative hbeag or HBV DNA levels", *Antivir Ther.* 13(4), page 547-54.
 160. Wiseman E. et al. (2009), "Perinatal transmission of hepatitis B virus: an Australian experience", *Med J Aust.* 190(9), page 489-92.
 161. Wong G. L. H. et al. (2012), "Undetectable HBV DNA at month 12 of entecavir treatment predicts maintained viral suppression and HBeAg-seroconversion in chronic hepatitis B patients at 3 years", *Alimentary Pharmacology & Therapeutics.* 35(11), page 1326-1335.
 162. World Health Organization (WHO) (2012), "Prevention and control of viral hepatitis infection: framework for global action.", *Geneva, WHO.*
 163. Xiao L. et al. (2011), "Hepatitis B virus genotype B with G1896A and A1762T/G1764A mutations is associated with hepatitis B related acute-on-chronic liver failure", *J Med Virol.* 83(9), page 1544-50.
 164. Xibing G., Xiaojuan Y. and Juanhua W. (2013), "PD-1 expression on CTL may be related to more severe liver damage in CHB patients with HBV genotype C than in those with genotype B infection", *J Viral Hepat.* 20(4), page e1-2.
 165. Xibing G. et al. (2012), "Relationship Between HBV Genotypes B, C and Follicular Helper T Cells in Patients with Chronic Hepatitis B and its Significance", *Hepat Mon.* 13(1), page e6221.
 166. Yang H. C. et al. (2013), "Distinct evolution and predictive value of hepatitis B virus precore and basal core promoter mutations in interferon-induced hepatitis B e antigen seroconversion", *Hepatology.* 57(3), page 934-43.
 167. Yang H. I. et al. (2002), "Hepatitis B e antigen and the risk of hepatocellular carcinoma", *N Engl J Med.* 347(3), page 168-74.

168. Yang H. I. et al. (2008), "Associations Between Hepatitis B Virus Genotype and Mutants and the Risk of Hepatocellular Carcinoma", *Journal of the National Cancer Institute*. 100(16), page 1134-1143.
169. Yao G. B. et al. (2010), "Virological, serological and biochemical outcomes through 3 years of entecavir treatment in nucleoside-naive Chinese chronic hepatitis B patients", *Journal of Viral Hepatitis*. 17, page 51-58.
170. Yim H. J. et al. (2006), "Evolution of multi-drug resistant hepatitis B virus during sequential therapy", *Hepatology*. 44(3), page 703-12.
171. Yin J. et al. (2011), "Association Between the Various Mutations in Viral Core Promoter Region to Different Stages of Hepatitis B, Ranging of Asymptomatic Carrier State to Hepatocellular Carcinoma", *Am J Gastroenterol*. 106(1), page 81-92.
172. Yokosuka O. et al. (2010), "Long-term use of entecavir in nucleoside-naive Japanese patients with chronic hepatitis B infection", *J Hepatol*. 52(6), page 791-9.
173. You S. L., Yang H. I. and Chen C. J. (2004), "Seropositivity of hepatitis B e antigen and hepatocellular carcinoma", *Ann Med*. 36(3), page 215-24.
174. Yu M. W. et al. (2000), "Familial risk of hepatocellular carcinoma among chronic hepatitis B carriers and their relatives", *J Natl Cancer Inst*. 92(14), page 1159-64.
175. Yu M. W. et al. (2005), "Hepatitis B virus genotype and DNA level and hepatocellular carcinoma: a prospective study in men", *J Natl Cancer Inst*. 97(4), page 265-72.
176. Yuen M. F. et al. (2007), "Hepatitis B virus DNA levels at week 4 of lamivudine treatment predict the 5-year ideal response", *Hepatology*. 46(6), page 1695-703.

177. Yuen M. F. et al. (2011), "Three years of continuous entecavir therapy in treatment-naive chronic hepatitis B patients: VIRAL suppression, viral resistance, and clinical safety", *Am J Gastroenterol.* 106(7), page 1264-71.
178. Yuen M. F., Tanaka Y. and Lai C. L. (2003), "Hepatitis B genotypes in chronic hepatitis B and lamivudine therapy", *Intervirology.* 46(6), page 373-6.
179. Zoulim F. and Locarnini S. (2012), "Management of treatment failure in chronic hepatitis B", *J Hepatol.* 56 Suppl 1, page S112-22.
180. Zoutendijk R. et al. (2011), "Entecavir treatment for chronic hepatitis B: adaptation is not needed for the majority of naive patients with a partial virological response", *Hepatology.* 54(2), page 443-51.
181. Zoutendijk R. et al. (2013), "Precore and core promoter mutants are associated with higher HBeAg seroconversion but low disease remission rates in HBV patients treated with nucleos(t)ide analogues", *J Viral Hepat.* 20(5), page 322-7.